UFSM

Dissertação de Mestrado

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE As, Cd E Pb EM CARNE E PRODUTOS CÁRNEOS

Júlia Grasiela Spellmeier

PPGQ

Santa Maria, RS, Brasil

2011

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE As, Cd E Pb EM CARNE E PRODUTOS CÁRNEOS

por

Júlia Grasiela Spellmeier

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, **Área de Química Analítica**, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química**.

Santa Maria, RS, Brasil

2011

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

A Comissão Examinadora abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE As, Cd E Pb EM CARNE E PRODUTOS CÁRNEOS

elaborada por

Júlia Grasiela Spellmeier

Como requisito parcial para a obtenção do grau de

Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

____

Dr. Érico Marlon de Moraes Flores - Orientador (UFSM - RS)

____

Dr. José Neri Gottfried Paniz (UFSM - RS)

____

Dr. Juliano Smanioto Barin (UFSM - RS)

Santa Maria, 05 de Dezembro de 2011.

Dedico este trabalho à minha família, em especial
ao meu noivo Girlei e meus pais Arno e Alaides,
pelo carinho, apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria**, pela possibilidade de execução deste trabalho.

Ao prof. Dr. **Érico Marlon de Moraes Flores**, pela orientação, pelo exemplo profissional e apoio durante a execução deste trabalho.

Aos prof. Drs. **Edson Irineu Müller e Valderi Luiz Dressler**, pelo apoio e contribuições durante a execução do trabalho.

Aos prof. Drs. **José Neri Gottfried Paniz e Juliano Smanioto Barin,** pela participação como banca examinadora e pelas valiosas sugestões que contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao **Laboratório Lanagro - RS**, por conceder as amostras e informações relevantes para a realização deste trabalho.

Aos colegas do **Setor de Química Industrial e Ambiental** do Departamento de Química da UFSM, pelo apoio, colaboração e companheirismo demonstrados.

Ao **Centro Universitário Univates** pela oportunidade e apoio para realizar a qualificação profissional. Aos colegas do **Laboratório Unianálises** pelo incentivo, amizade e apoio durante o desenvolvimento das atividades do mestrado. E aos amigos **Miriam Ines Marchi e Eduardo Miranda Ethur** pelo grande incentivo, apoio e amizade.

Em especial ao **Girlei**, pela ajuda, incentivo, carinho e compreensão demonstrados em todos os momentos. E aos **demais familiares e amigos** pelo suporte, carinho e incentivo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

1. AAS, espectrometria de absorção atômica, do inglês *atomic absorption spectrometry*
2. AFS, espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *atomic fluorescence spectrometry*
3. ANOVA, análise de variância
4. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária
5. AOAC, Associação de Analistas Químicos Oficiais, do inglês *Association of Official Analytical Chemists*
6. CRM, material de referência certificado, do inglês *certified reference material*
7. CV AAS, espectrometria de absorção atômica com vapor frio, do inglês *cold vapor atomic absorption spectrometry*
8. CVG AAS, espectrometria de absorção atômica com geração química de vapor, do inglês *chemical vapor generation atomic absorption spectrometry*
9. EFSA, Autoridade Européia de Segurança Alimentar, do inglês *European Food Safety Authoriry*
10. ETV, vaporização eletrotérmica, do inglês *electrothermal vaporization*
11. ETV-ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com vaporizador eletrotérmico, do inglês e*lectrothermal vaporization coupled to the inductively coupled plasma mass spectrometry*
12. F AAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*
13. FI, injeção em fluxo, do inglês *flow injection*
14. FI-CV ICP-MS, injeção em fluxo com geração de vapor frio e detecção por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *flow injection cold vapor inductively coupled plasma mass spectrometry*
15. FI-CV AFS, injeção em fluxo com geração de vapor frio e detecção por espectrometria de fluorescência atômica, do inglês *flow injection cold vapor atomic fluorescence spectrometry*
16. GF AAS, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*

17. HG AAS, espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, do inglês *hydride generation atomic absorption spectrometry*
18. HPA, sistema de decomposição em alta pressão, do inglês *High Pressure Asher*
19. ICP OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*
20. ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*
21. LD, limite de detecção
22. LQ, limite de quantificação
23. MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
24. MDIC, Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior
25. MIC, combustão iniciada por micro-ondas, do inglês *microwave-induced combustion*
26. MIP-OES, espectrometria de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas, do inglês *microwave induced plasma optical emission spectrometry*
27. m/v, massa por volume
28. m/z, razão massa/carga
29. PNCRC, Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
30. PFTE, politetrafluoroetileno
31. RCC, teor de carbono residual, do inglês *residual carbon content*
32. rpm, rotações por minuto
33. TMAH, hidróxido de tetrametilamônio
34. SIF, Serviço de Inspeção Federal
35. SS-ET AAS, amostragem direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica eletrotérmica, do inglês s*olid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry*

RESUMO

Métodos de preparo de amostra por decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas, decomposição por via seca, decomposição por via úmida em sistema aberto e solubilização com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) foram avaliados para a posterior determinação de As, Cd e Pb em carne (aves, bovina, equina e suína), fígado (suíno), rim (bovino e suíno) e produtos cárneos (linguiça, presunto e salsicha). A determinação foi feita utilizando as técnicas de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Em relação aos métodos recomendados pela norma AOAC, a decomposição por via úmida em sistema fechado mostrou-se adequada para a posterior determinação de As, Cd e Pb, porém com a decomposição por via seca houve perdas de As. Os métodos propostos (via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH) foram otimizados avaliando a massa de amostra, volume de reagentes, tempo, temperatura, entre outros parâmetros. As condições selecionadas para a decomposição por via úmida em sistema aberto foram de 2 g de amostra, 10 mL de HNO_3 + 1 mL de H_2O_2 em 150 ºC por 2 horas. A otimização do procedimento de solubilização alcalina foi realizada empregando planejamento fatorial. As condições selecionadas foram 500 mg de amostra, 500 µL de TMAH e solubilização em banho-maria a 90 ºC por 120 min com agitação de 150 rpm. A recuperação de As, Cd e Pb por adição de analito foi satisfatória para a decomposição por via úmida em sistema aberto (95 a 105%) e solubilização com TMAH (95 a 104%). Os resultados para os materiais de referência certificados (músculo e fígado bovino) também foram concordantes (> 95%). Os métodos de preparo de amostra propostos foram adequados para posterior determinação de As, Cd e Pb em carne e produtos cárneos, proporcionando baixo custo e elevada capacidade de processamento de amostras. Além disso, os mesmos podem ser aplicados tanto para amostras *in natura* quanto liofilizadas e a determinação pode ser feita por ICP OES e GF AAS. Dentre as amostras analisadas, todas apresentaram teores de As, Cd e Pb inferiores aos limites máximos preconizados na legislação.

ABSTRACT

Sample preparation methods, such as microwave-assisted wet digestion, dry ashing, wet digestion in open system and tetramethylammonium hydroxide (TMAH) solubilization were evaluated for subsequent As, Cd and Pb determination in meat (poultry, bovine, equine and pork), liver (pork), kidney (beef and pork) and its products (sausage, ham and spicy sausage). The determination was executed using atomic absorption spectrometry with graphite furnace (GF AAS), optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES) and mass spectrometry with inductively coupled plasma (ICP-MS) techniques. Regarding the methods recommended by the AOAC, the wet decomposition in a closed system was adequate for the subsequent determination of As, Cd and Pb but in dry ashing method As losses occurred. The proposed methods (wet open system and solubilization with TMAH) were optimized by evaluating parameters such as sample mass, reagents volume, time, temperature and others. The selected conditions for open decomposition system using digestion block were 2 g of sample mass, 10 mL of HNO_3 + 1 mL of H_2O_2 at 150 ºC for 2 hours. The alkaline solubilization procedure was executed employing factorial design. The selected conditions were 500 mg of sample mass, 500 µL of TMAH and water bath solubilization at 90 ºC/120 min with 150 rpm agitation. The As, Cd and Pb recovery by spiking was satisfactory for open system decomposition (95 to 105%) and TMAH solubilization (95 to 104%). The results obtained for the certified reference materials (bovine muscle and liver) were in agreement (> 95%) with certified valves. The sample preparation methods proposed were considered appropriate for subsequent As, Cd and Pb determination in meat and similar products, offering low cost and high samples throughput. Moreover, they can be applied for both fresh and freeze-dried samples and the determination can be made by ICP OES and GF AAS. Among the samples analyzed, all showed levels of As, Cd and Pb below the maximum recommended in the legislation.

1. INTRODUÇÃO

A presença de elementos tóxicos em produtos de origem animal pode resultar tanto da contaminação ambiental quanto do uso intencional de substâncias ou do tipo de dieta dos animais.[104] Dessa forma, a crescente busca por qualidade de vida e conscientização dos consumidores tem conduzido diversos países a estabelecer programas de monitoramento de resíduos e contaminantes em alimentos.

O Brasil, atualmente maior exportador mundial de carne bovina e de aves, tem estabelecido planos de controle visando a adequação às exigências internacionais e a proteção à saúde da população. Em relação ao controle de contaminantes inorgânicos em carnes, a legislação brasileira regulamenta o monitoramento de As, Cd e Pb.[19]

Este controle de qualidade em alimentos demanda metodologias confiáveis, rápidas e de fácil aplicação.[61] Dentre os métodos de preparo de amostras biológicas utilizados atualmente para a posterior determinação de elementos-traços, destacam-se a decomposição por via úmida em sistema aberto,[15,35] por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas,[29,47] decomposição por via seca,[32,112] extração,[66,109] preparo de suspensões[6] e análise direta de sólidos.[85,94]

---

[104] **Spisso, B. F., Nóbrega, A. W., Marques, M. A. S., *Ciência & Saúde Colet.* 14 (2009) 2091 - 2106.**

[19] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 08, de 29 de abril de 2010, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (2010).**

[61] **Korn, M. G. A., Boa Morte, E. S., Santos, D. C. M. B., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., Santos, W. P. C., Santos, E. B. G. N., Korn, M., *Appl. Spectrosc. Rev.* 43 (2008) 67 - 92.**

[15] **Boutakhrit, K., Claus, R., Bolle, F., Degroodt, J. M., Goeyens, L., *Talanta* 66 (2005) 1042 - 1047.**

[35] **Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.**

[29] **Cid, B. P., Boia, C., Pombo, L., Rebelo, E., *Food Chem.* 75 (2001) 93 - 100.**

[47] **Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nobrega, J. A., Nogueira, A. R. A., *Talanta* 79 (2009) 396 - 401.**

[32] **Coni, E., Bocca, A., Coppolelli, P., Caroli, S., Cavallucci, C., Marinucci, M. T., *Food Chem.* 57 (1996) 253 - 260.**

[112] **Tüzen, M., *Food Chem.* 80 (2003) 119 - 123.**

[66] **López-García, I., Viñas, P., Romero-Romero, R., Hernández-Córdoba, M., *Spectrochim. Acta Part B* 62 (2007) 48 - 55.**

[109] **Tokman, N., *J. Hazard. Mat.* 143 (2007) 87 - 94.**

[6] **Barałkiewicz, D., *Talanta* 56 (2002) 105 - 114.**

[85] **Nomura, C. S., Silva, C. S., Oliveira, P. V., *Quim. Nova* 31 (2008) 104 - 113.**

[94] **Ribeiro, A. S., Vieira, M. A., Silva, A. F., Borges, D. L. G., Welz, B., Heitmann, U., Curtius, A. J., *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 693 - 698.**

A maioria dos métodos de preparo de amostras são baseados no uso de ácidos concentrados, especialmente em condições de alta temperatura e pressão.[82] Além disso, o uso de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e reagentes fortemente alcalinos são empregados com sucesso, especialmente em métodos de extração, solubilização e preparo de suspensões. O tratamento de amostras com TMAH é uma interessante alternativa que tem demonstrado eficiência na solubilização de amostras biológicas, apresentando como vantagens a simplicidade e rapidez no preparo.[11,69]

Procedimentos de preparo de amostras têm sido desenvolvidos com base em conceitos como minimização de erros devido a perdas ou contaminação e facilidade de processamento de grande número de amostras.[95] No entanto, muitos procedimentos vigentes ainda são baseados em métodos de decomposição inadequados para alguns analitos, como a via seca.[116]

Para a determinação de metais em alimentos, a norma AOAC recomenda como preparo de amostra a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas e a decomposição por via seca. Já as técnicas de determinação recomendadas são a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) e a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). Entretanto, outras técnicas como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) também têm sido utilizadas nos laboratórios, permitindo análises multielementares.

Baseado nos pressupostos acima, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de métodos adequados de preparo de amostra para posterior determinação de As, Cd e Pb em carne e produtos cárneos utilizando as técnicas de GF AAS, ICP OES e ICP-MS. Para isso, foram avaliados os métodos de decomposição por via seca, via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas, via úmida em sistema aberto e solubilização alcalina com TMAH.

---

[82] **Nóbrega, J. A., Santos, M. C., Sousa, R. A., Cadore, S., Barnes, R. M., Tatro, M., *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 465 - 495.**
[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.**
[69] **Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.**
[95] **Ridgway K., Lalljie S. P. D., Smith R. M., *J. Chromatogr.* A 1153 (2007) 36 - 53.**
[116] **Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 187 - 196.**

2. REVISÃO DA LITERATURA

A revisão bibliográfica encontra-se dividida em 4 partes, compreendendo os principais assuntos abordados neste trabalho. Inicialmente, é apresentada uma breve discussão sobre contaminantes inorgânicos em alimentos, principalmente cárneos. Em seguida, são discutidos os métodos de preparo de amostra mais comumente empregados e algumas recentes alternativas. Na terceira e quarta parte são descritas as técnicas utilizadas para determinação de metais e metalóides em alimentos, além dos métodos oficiais recomendados.

2.1. CONTAMINANTES EM ALIMENTOS

2.1.1. Controle de resíduos e contaminantes em alimentos

A legislação brasileira controla os resíduos e contaminantes em alimentos através do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC).[21] O monitoramento, realizado desde 1979, tem como objetivo o controle de substâncias empregadas na agropecuária, detecção da administração ilegal ou abusiva de substâncias e presença de contaminantes ambientais em produtos de origem animal.[21,104]

O PNCRC é periodicamente revisado e a legislação atualmente em vigor é a Instrução Normativa nº 08/2010 que estabelece o controle de resíduos e contaminantes em carnes, ovos, leite e mel. Neste plano são estabelecidos os grupos de contaminantes, matriz, limites máximos de tolerância e os planos de amostragem. A legislação brasileira estabelece os limites máximos baseados na recomendação do *Codex Alimentarius*, através do Regulamento (EC) n*º* 1881/2006[30] (EC) nº 333/2007[31] a Comunidade da União Européia.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) dividem as responsabilidades referentes aos riscos de agravo à saúde decorrente da exposição humana a resíduos. Em consequência de auditorias da missão européia, o uso de alguns medicamentos de uso veterinário foi proibido.[104] Em relação aos contaminantes inorgânicos, a Portaria nº 31/2002 determinou o cancelamento dos registros de produtos contendo princípios ativos à base de arsenicais e antimoniais destinados à alimentação animal.[20] Atualmente, apesar do uso proibido na União Européia, é autorizado no Brasil o uso terapêutico dos arsenicais, mas é proibido o seu uso como aditivos promotores de crescimento.[104]

---

[21] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 86, de 26 de janeiro de 1979, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (1979).**

[104] **Spisso, B. F., Nóbrega, A. W., Marques, M. A. S., *Ciência & Saúde Colet.* 14 (2009) 2091 - 2106.**

[30] **Commission regulation (EC) Nº 1881/2006 of 19 December 2006, *Official J. Europ. Union* (2006).**

[31] **Commission Regulation (EC) Nº 333/2007 of 28 March 2007, *Official J. Europ. Union* (2007).**

[20] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 31, de 29 de janeiro de 2002, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (2002).**

2.1.1.1. Contaminantes inorgânicos em carnes

Desde 2004, o Brasil é o maior exportador mundial de carne bovina e aves, e o quarto maior exportador de carne suína. Os principais mercados para as exportações de carne do Brasil incluem a União Européia, Rússia, Hong Kong e Japão. O Brasil também é o quarto maior exportador de carne equina, cuja produção é destinada principalmente para Bélgica, Itália, Japão e Holanda.[77]

Neste cenário, segundo o Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC), o Brasil se consolida como o principal produtor e exportador de proteína de origem animal.[77] As exportações têm sido impulsionadas no Brasil pela combinação do aumento dos rendimentos e disponibilidade imediata de recursos de terra e animais para apoiar a produção de carne. Contudo, o maior acesso ao mercado global dependerá da capacidade de implementar e manter controles sanitários, de resíduos e contaminantes em alimentos.[115]

Em relação ao controle de contaminantes inorgânicos em carnes, a legislação brasileira regulamenta o monitoramento de As, Cd e Pb em músculo e rim. Os elementos e respectivos limites máximos variam em função da matriz e da espécie de carne (bovina, equina, suína e aves), conforme mostrado na Tabela 1.[19]

Tabela 1. Limites máximos do PNCRC para contaminantes inorgânicos em carnes.

		Limites máximos (μg kg^{-1}, base úmida)/Tipo de carne			
Elemento	Matriz	Bovina	Equina	Suína	Aves
Arsênio	Músculo	-	10	-	500
	Rim	1000	-	2000	-
Cádmio	Músculo	-	200	-	-
	Rim	1000	-	1000	1000
Chumbo	Rim	500	500	500	500

Fonte: Instrução Normativa nº 08/2010 - MAPA.

[77] **Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. A Cadeia Produtiva de Carnes. Disponível em http://www.mdic.gov.br//sitio/interna/interna.php?area=2&menu=855. Acesso em: 11/08/2011.**

[115] **Valdes, C, Brazil Emerges as Major Force in Global Meat Markets. Disponível http://www.ers.usda.gov/AmberWaves/April6/Findings/Brazil.htm. Acesso em: 11/08/2011.**

[19] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 08, de 29 de abril de 2010, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (2010).**

Nos produtos industrializados o controle é realizado pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) que coleta e remete amostras aos laboratórios oficiais. A análise de resíduos no âmbito do PNCRC tem como propósito obter informações sobre os níveis médios regionais, permitindo localizar áreas de contaminação ambiental.[17] Uma série de procedimentos é adotada à medida que alguma amostra apresenta não conformidade em relação aos limites permitidos pela legislação. É executado um inquérito para exploração de procedência e o proprietário não pode vender, trocar ou dar os animais existentes à data de produção referenciada sem autorização da autoridade competente. Os animais a que correspondam às análises não conformes são abatidos e reprovados para consumo público.[16]

Segundo o Relatório de Resultados do PNCRC Carnes no exercício de 2010, dentre as amostras coletadas no período, as espécies de carne bovina (0,97% das amostras), suína (1,52%), aves (0,20%) e equina (4,92%), apresentaram não conformidades devido à presença de contaminantes inorgânicos. As não conformidades estavam relacionadas à contaminação de Cd em amostras de rim da espécie bovina, suína e aves, além da contaminação de As e Cd em músculo da espécie equina.[22]

2.1.2. Contaminação de As, Cd e Pb em alimentos

2.1.2.1. Arsênio

O As é um metalóide que ocorre em diferentes formas orgânicas e inorgânicas, encontrado no meio ambiente por ocorrência natural e/ou por atividade antropogênica.[51,67] A mineralização natural e a atividade de microorganismos potencializa a mobilização de As no meio ambiente, mas a intervenção humana tem

---

[17] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 42, de 22 de dezembro de 1999, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (1999).**

[16] **Brasil. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas. Relatório de Resultados PNCRC 2008. Disponível em http://www2.dgv.minagricultura.pt/higiene_publica/docs/Relat%C3%B3rioresultados2008.pdf. Acesso em: 15/06/2011.**

[22] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 06, de 25 de fevereiro de 2011, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (2011).**

[51] **Hughes, M. F., *Toxicol. Let.* 133 (2002) 1 - 16.**

[67] **Mandal, B. K., Suzuki, K. T., *Talanta* 58 (2002) 201 - 235.**

agravado a contaminação.[36] As principais aplicações deste elemento incluem a produção de semicondutores, pigmentos, fabricação de vidro, pesticidas e fármacos.[10,36,67]

O metabolismo do As tem um papel importante na sua toxicidade.[38] As espécies inorgânicas de As são mais tóxicas que as orgânicas. Além disso, as espécies trivalentes têm propriedades mais tóxicas que a espécies pentavalentes.[10,36] O mecanismo exato da ação não é conhecido mas várias hipóteses têm sido propostas.[10,51] Em nível bioquímico, o As inorgânico no estado pentavalente pode substituir o fosfato em diversas reações.[51] Já no estado trivalente, inorgânico e orgânico, podem reagir com tióis em proteínas e enzimas inibindo suas atividades.[36,51]

Peixes e frutos do mar contêm majoritariamente As na forma orgânica. Entretanto, em muitos alimentos apresenta-se essencialmente na forma inorgânica (entre 65 a 75% em leite, produtos lácteos, carnes e cereais, e 85 a 95% em arroz e legumes).[67]

Apesar da tendência de compostos arsenicais orgânicos serem plenamente substituídos por outros reconhecidamente mais eficientes, a principal contaminação na carne ocorre através destes compostos que são ainda muito usados na ração para a avicultura e suinocultura (controle de enterites bacterianas).[17] O composto orgânico de As amplamente adicionado à alimentação de frangos de corte é o Roxarsone (ácido 3-nitro-4-hidroxilfenilarsonico), cuja estrutura molecular é mostrada na Figura 1. Este composto é usado para controlar a coccidiose (controle de parasitas intestinais) melhorando, assim, a eficiência alimentar. Além disso, este composto proporciona a estimulação de crescimento e aumento da pigmentação. A dose geralmente empregada na dieta é de 45,4 mg kg^{-1} na ração, sendo que a maior

---

[36] **Duker, A. A., Carranza, E. J. M., Hale M., *Environ. Int.* 31 (2005) 631 - 641.**
[10] **Basu, A., Mahata, J., Gupta, S., Giri, A. K., *Mutat. Res.* 488 (2001) 171 - 194.**
[67] **Mandal, B. K., Suzuki, K. T., *Talanta* 58 (2002) 201 - 235.**
[38] **EFSA, European Food Safety Authority, Panel on Contaminants in the Food Chain; Scientific Opinion on Arsenic in Food, *EFSA J.* (2009), Disponível em: www.efsa.europa.eu. Acesso em: 14/09/2011.**
[51] **Hughes, M. F., *Toxicol. Let.* 133 (2002) 1 - 16.**
[17] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 42, de 22 de dezembro de 1999, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (1999).**

parte é excretada sem a alteração do composto.[121] Adicionalmente, a contaminação da carne pode ocorrer devido à exposição ambiental dos animais.[17]
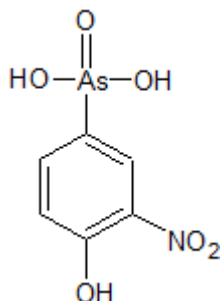
Figura 1. Estrutura molecular do Roxarsone

Os principais efeitos adversos à saúde são lesões dérmicas, doenças cardiovasculares, respiratórias, pulmonares, gastrointestinais, imunológicas, hematológicas, hepáticas, renais, neurológicas, de desenvolvimento, de reprodução e efeitos genotóxicos, mutagênicos e cancerígenos.[67] Os órgãos mais afetados são aqueles envolvidos com a absorção, acumulação e/ou excreção de As, como o trato gastrointestinal, sistema circulatório, fígado e rins.[36]

2.1.2.2. Cádmio

O Cd é um elemento citotóxico, carcinogênico e mutagênico sem qualquer papel biológico conhecido.[52,63,58,80] É encontrado como contaminante ambiental, de ocorrência natural, agrícola ou de fontes industriais.[54] As principais fontes de contaminação industrial são mineração, metalurgia, fabricação de baterias,

---

[121] **Wershaw, R. L., Rutherford, D. W., Rostad, C. E., Garbarino, J. R., Ferrer, I., Kennedy, K. R., Momplaisir, G., Grange, A., T*alanta* 59 (2003) 1219 - 1226.**

[17] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 42, de 22 de dezembro de 1999, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (1999).**

[67] **Mandal, B. K., Suzuki, K. T., *Talanta* 58 (2002) 201 - 235.**

[36] **Duker, A. A., Carranza, E. J. M., Hale M., *Environ. Int.* 31 (2005) 631 - 641.**

[52] **Il'yasova, D., Schwartz, G. G., *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 207 (2005) 179 - 186.**

[63] **Liu, J., Sturgeon R. E., Willie, S. N., *Analyst* 120 (1995) 1905 - 1909.**

[58] **Joseph, P., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238 (2009) 272 - 279.**

[80] **Monteiro, M., Santos, C., Mann, R. M., Soares, A. M. V. M., Lopes, T., *Environ. Exp. Bot.* 60 (2007) 421 - 427.**

[54] **Järup, L., Åkesson, A., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238 (2009) 201 - 208.**

pigmentos e estabilizadores de plásticos. As principais fontes de intoxicação humana são fumaça do cigarro, alimentos, água e ar.[13,52]

Altas concentrações de Cd são encontradas em moluscos, crustáceos, sementes de oleaginosas, cacau e vísceras como fígado e rim (especialmente originados de animais mais velhos).[99] Alimentos provenientes de plantas geralmente contêm maiores teores de Cd que produtos como carne, ovos, leite e produtos lácteos. Além disso, cereais (arroz e trigo), folhas verdes, batata e raízes (cenoura e aipo), contêm maior concentração que outros alimentos de origem vegetal.[54]

No encontro realizado pela Autoridade de Segurança Alimentar da Europa (EFSA) em 2009, foram publicados dados relatando que as amostras que apresentaram maiores índices de não-conformidades foram carne equina, aipo, peixes e moluscos. As amostras de carne que ultrapassaram os limites da legislação foram: carne bovina, ovina e caprina (3,6%), carne suína (1,6%) e carne equina (11%).[37] A contaminação de Cd na carne pode ocorrer através da dieta dos animais, pois estudos têm evidenciado que suplementos minerais como fontes de fósforo apresentam elevados teores de Cd.[108]

Estudos indicam que o Cd tem potencial de causar câncer de pulmão, rins e de próstata.[52,58] Além disso, está associado a doenças de obstrução das vias respiratórias, enfisema, insuficiência renal e doenças ósseas.[13] Este elemento é principalmente retido no rim e fígado do corpo humano, com uma meia-vida biológica muito longa variando de 10 a 30 anos.[54] Desta forma, é tóxico principalmente para os rins, especialmente para as células tubulares proximais, onde se acumula e pode causar disfunção renal.[37,52,54]

---

[13] **Bertin, G., Averbeck, D., *Biochimie* 88 (2006) 1549 - 1559.**
[52] **Il'yasova, D., Schwartz, G. G., *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 207 (2005) 179 - 186.**
[99] **Rudy, M., *Food Chem. Toxicol.* 47 (2009) 1117 - 1122.**
[54] **Järup, L., Åkesson, A., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238 (2009) 201 - 208.**
[37] **EFSA, European Food Safety Authority, Cadmium in food: scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *EFSA J.* (2009), Disponível em: www.efsa.europa.eu. Acesso em: 14/09/2011.**
[108] **Teixeira, A. O., Lopes, D. C., Ribeiro, M. C. T., Lopes, J. B., Ferreira, V. P. A., Vitti, D. M. S. S., Moreira, J. A., Pena, S. M., *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57 (2005) 502 - 509.**
[58] **Joseph, P., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238 (2009) 272 - 279.**

2.1.2.3. Chumbo

O Pb é um metal que possui propriedades físicas e químicas bastante distintas, tornando-o adequado para uma grande variedade de aplicações[28,43] As principais fontes de emissão de Pb ao meio ambiente são a mineração, fundição, fabricação de baterias, vernizes, tintas, dispositivos eletrônicos e ainda o emprego, por alguns países, como aditivo na gasolina.[3,56]

Com relação à contaminação em alimentos, segundo o mesmo encontro realizado pela EFSA em 2009, os cereais, vegetais e a água foram considerados como sendo os principais responsáveis para a exposição de Pb ao ser humano.[39]

Na carne, a contaminação de Pb pode estar associada ao tipo de dieta do animal de abate. Estudos têm evidenciado contaminação de Pb em fontes de fósforo e sais minerais disponíveis no mercado.[68,108] Isto reforça a necessidade de monitoramento da matéria-prima, em virtude dos efeitos cumulativos e tóxicos nos animais. Além disso, a presença de Pb pode provocar contaminação ambiental originada pela defecação dos animais que recebem formulações minerais contaminadas, atingindo o solo, a vegetação e os mananciais hídricos.[68]

O Pb é classificado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer como possível cancerígeno humano.[43] A intoxicação também pode causar distúrbios gastrointestinais, musculares, reprodutivos, imunológicos, renais, cardiovasculares, ósseos, neurológicos, comportamentais e genéticos.[3] Em crianças estes efeitos são ainda mais significativos,[56,76] sendo que correm maiores riscos de ingestão acidental e a absorção gastrointestinal é maior.[3] Apesar dos mecanismos bioquímicos e moleculares de ação toxicológica ainda não estarem bem elucidados, estudos

---

[28] **Cheng, H., Hu, Y., *Environ. Pollut.* 158 (2010) 1134 - 1146.**
[43] **García-Lestón, J., Méndez, J., Pásaro, E., Laffon, B., *Environ. Int.* 36 (2010) 623 - 636.**
[3] **Ahamed, M., Siddiqui, M. K. J., *Clinic. Nutrit.* 26 (2007) 400 - 408.**
[56] **Johnson, F. M., *Mutat. Res.* 410 (1998) 123 - 140.**
[39] **EFSA, European Food Safety Authority, Panel on contaminants in the food chain; scientific opinion on lead in food. *EFSA J.* (2010), Disponível em: www.efsa.europa.eu. Acesso em: 14/09/2011.**
[68] **Marçal, W. S., Gaste, L., Nascimento, M. R. L., *Ciência Animal Bras.* 6 (2005) 249 - 253.**
[108] **Teixeira, A. O., Lopes, D. C., Ribeiro, M. C. T., Lopes, J. B., Ferreira, V. P. A., Vitti, D. M. S. S., Moreira, J. A., Pena, S. M., *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57 (2005) 502 - 509.**
[76] **Meyer, P. A., Brown, M. J., Falk, H., *Mutat. Res.* 659 (2008) 166 - 175.**

apontam para mecanismos indiretos de genotoxicidade tais como inibição de reparo de DNA ou produção de radicais livres.[43]

2.2. PREPARO DE AMOSTRAS PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS EM ALIMENTOS

Os alimentos são considerados uma mistura complexa não-homogênea com uma grande quantidade de substâncias o que, muitas vezes, dificulta a determinação dos analitos.[61] Assim, são necessários procedimentos de preparo da amostra, que consistem em submeter a amostra a um tratamento adequado visando a sua preparação para as etapas subsequentes da análise.[62] A seleção do método de preparo é dependente da matriz da amostra, do elemento a ser determinado, do método de análise e da quantidade de amostra e equipamentos disponíveis.[23,62,95]

Etapas de pré-tratamento da amostra como secagem e moagem também são frequentemente executadas. A secagem pode ser realizada por liofilização[50], no entanto, para amostras como tecidos de animais, pode não ser adequada devido à presença de alto teor de gordura ou tendência de aglutinação[95] Para a moagem, geralmente, são usados dispositivos de cominuição, tais como moinho criogênico, moinho de bolas e moinho de facas.[50]

Dentre os métodos de preparo de amostras biológicas utilizados atualmente para a determinação de espécies inorgânicas, podem ser destacadas a decomposição por via úmida em sistema aberto,[15,34,35,53] por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas,[70,74] decomposição por via seca,[32,100,112,113,116]

---

[43] **García-Lestón, J., Méndez, J., Pásaro, E., Laffon, B., *Environ. Int.* 36 (2010) 623 - 636.**

[61] **Korn, M. G. A., Boa Morte, E. S., Santos, D. C. M. B., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., Santos, W. P. C., Santos, E. B. G. N., Korn, M., *Appl. Spectrosc. Rev.* 43 (2008) 67 - 92.**

[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**

[23] **Buldini, P. L., Ricci, L., Sharma, J. L., *J. Chromatogr.* A 975 (2002) 47 - 70.**

[95] **Ridgway K., Lalljie S. P. D., Smith R. M., *J. Chromatogr.* A 1153 (2007) 36 - 53.**

[50] **Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 1021- 1038.**

[15] **Boutakhrit, K., Claus, R., Bolle, F., Degroodt, J. M., Goeyens, L., *Talanta* 66 (2005) 1042 - 1047.**

[34] **Damin, I. C. F., Silva, M. M., Vale, M. G. R., Welz, B., *Spectrochim. Acta Part B* 62 (2007) 1037 - 1045.**

[35] **Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.**

[53] **Iwegbue, C. M. A., Nwajei G. E., Iyoha E. H., *Bulg. J. Vet. Med.* 11 (2008) 275 - 280.**

[70] **Matos, W. O., Menezes, E. A., Gonzalez, M. H., Costa, L. M., Trevizan, L. C., Nogueira, A. R. A., *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 615 - 618.**

extração ácida,[26,66,73,109] preparo de suspensões[6] e solubilização alcalina.[7,11,12,44,69,81,89,90,91] Além disso, a análise direta de sólidos também tem sido utilizada.[33,85,94]

Nesta revisão, será dado maior destaque aos procedimentos de decomposição que apresentam similaridade aos procedimentos apresentados no presente trabalho. Assim, serão abordados os procedimentos de decomposição por combustão (em forno tipo mufla e iniciada por micro-ondas), decomposição por via úmida em sistema aberto (com aquecimento convencional e assistido por micro-ondas) e sistema fechado (com aquecimento convencional e assistido por micro-ondas), além de procedimentos de extração e solubilização alcalina. Os demais sistemas, apesar de importantes e muito empregados em rotina, não foram igualmente comentados em vista da extensa literatura disponível que documenta os fundamentos e sua aplicação.[62]

---

[74] **Mendil, D., Uluozlu, O. D., Hasdemir, E., Tuzen, M., Sari, H., Suiçmez, M., *Food Chem.* 90 (2005) 175 - 179.**
[32] **Coni, E., Bocca, A., Coppolelli, P., Caroli, S., Cavallucci, C., Marinucci, M. T., *Food Chem.* 57 (1996) 253 - 260.**
[100] **Saracoglu, S., Saygi, K. O., Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Soylak, M., *Food Chem.* 105 (2007) 280 - 285.**
[112] **Tüzen, M., *Food Chem.* 80 (2003) 119 - 123.**
[113] **Tüzen, M., Silici, S., Mendil, D., Soylak, M., *Food Chem.* 103 (2007) 325 - 330.**
[116] **Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 187 - 196.**
[26] **Cernohorsky, T., Krejová, A., Pouzar, M., Vavrusova, L., *Food Chem.* 106 (2008) 1246 - 1252.**
[66] **López-García, I., Viñas, P., Romero-Romero, R., Hernández-Córdoba, M., *Spectrochim. Acta Part B* 62 (2007) 48 - 55.**
[73] **McKinstrya, P. J., Indyka, H. E., Kimb, N. D., *Food Chem*. 65 (1999) 245 - 252.**
[109] **Tokman, N., *J. Hazard. Mat.* 143 (2007) 87 - 94.**
[6] **Barałkiewicz, D., *Talanta* 56 (2002) 105 – 114.**
[7] **Barbosa, F. J., Palmer, C. D., Krug, F. J., Parsons, P. J., *J . Anal . At . Spectrom*. 19 (2004) 1000 - 1005.**
[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.**
[12] **Batista, B. L., Rodrigues, J. L., Nunes, J. A., Tormen, L., Curtius, A. J., Barbosa, F. J., *Talanta* 76 (2008) 575 - 579.**
[44] **Giacomelli, M. B. O., Lima, M. C., Stupp, V., Carvalho, R. M. J., Silva, J. B. B., Barrera, P. B., *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2151 - 2157.**
[69] **Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.**
[81] **Nóbrega, J. A., Gélinas, Y., Krushevska, A., Barnes, R. M., *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 1239 - 1242.**
[89] **Park, C. J., Do, H., *J. Anal. At. Spectrom*. 23 (2008) 997 - 1002.**
[90] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 1101 - 1105.**
[91] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *Talanta 51* (2000) 903 - 911.**
[33] **Damin, I. C. F., Investigação da amostragem direta para determinação de elementos traço em carne in natura e em petróleo usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFRGS, Porto Alegre - RS, 2009.**
[85] **Nomura, C. S., Silva, C. S., Oliveira, P. V., *Quim. Nova* 31 (2008) 104 - 113.**
[94] **Ribeiro, A. S., Vieira, M. A., Silva, A. F., Borges, D. L. G., Welz, B., Heitmann, U., Curtius, A. J., *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 693 - 698.**
[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**

2.2.1. Decomposição por combustão

A decomposição de materiais orgânicos por combustão envolve a ação do oxigênio, cuja fonte pode ser o ar ou através do preenchimento com oxigênio, no frasco de decomposição.[62] Neste procedimento, a matéria orgânica é decomposta pela combinação de processos envolvendo, principalmente, pirólise e oxidação. A decomposição pode ser feita em sistemas abertos[50,61,116] ou fechados.[75]

A seguir, serão discutidos os procedimentos de decomposição em sistema aberto em forno tipo mufla e em sistema fechado por combustão iniciada por micro-ondas (MIC). A decomposição em forno mufla é comumente empregada para amostras de alimentos, além de ser recomendada pela AOAC e a MIC representa uma recente alternativa para o preparo de amostras.

2.2.1.1. Decomposição em sistema aberto por combustão em forno tipo mufla

A decomposição por via seca consiste na remoção da matéria orgânica por decomposição térmica e oxidação usando forno mufla. As temperaturas tipicamente empregadas são 450 a 550 ºC à pressão atmosférica e os resíduos resultantes são solubilizados com ácido apropriado.[50,61,116] Reagentes oxidantes como nitrato de magnésio e óxido de magnésio podem ser utilizados como auxiliares de incineração a fim de prevenir a volatilização dos analitos, melhorar a mineralização e também agilizar o processo de calcinação.[27,116]

A decomposição por via seca emprega instrumentação geralmente disponível na maioria dos laboratórios como cadinhos de porcelana, quartzo, platina e zircônio. Com exceção dos cadinhos de porcelana, os demais apresentam custo elevado para aquisição, mas podem ser reutilizados.[50]

---

[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**

[50] **Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 1021- 1038.**

[61] **Korn, M. G. A., Boa Morte, E. S., Santos, D. C. M. B., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., Santos, W. P. C., Santos, E. B. G. N., Korn, M., *Appl. Spectrosc. Rev.* 43 (2008) 67 - 92.**

[116] **Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 187 - 196.**

[75] **Mesko, M. F., Combustão iniciada por micro-ondas em sistema fechado para decomposição de amostras biológicas, Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Química, UFSM, Santa Maria - RS, 2004.**

[27] **Cervera, M. L., Lopez, J. C., Montoro, R., *Microchem. J.* 49 (1994) 20 - 26.**

O método garante a total destruição da matéria orgânica e os elementos associados são, geralmente, transformados em carbonatos ou óxidos. A seleção da temperatura é importante para garantir a completa decomposição sem perda de analitos por volatilização ou incorporação com resíduos insolúveis. Estes resíduos resultam da formação de óxidos refratários a partir da combinação com outros constituintes presentes na amostra ou de reações com o cadinho.[50] Como é um sistema de decomposição aberto, pode ocorrer contaminação através do ar atmosférico ou do ambiente interno da mufla.

Este método tem sido usado para a decomposição de diversos alimentos. Coni *et al*.[32] utilizaram via seca para decomposição de leite liofilizado para posterior determinação de Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Pt, Sr e Zn por ICP OES. Cerca de 5 g de amostra foram submetidos à temperatura de 420 ºC por 6 h. A concordância com CRMs foi de 91 a 109%.

Tüzen[112] determinou Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn por GF AAS em amostras de tecido de peixe comparando via seca e decomposição por via úmida. A decomposição por via seca foi feita com 1 g de amostra em mufla a 450 ºC por 4 h. Já a decomposição por via úmida foi feita com 1 g de amostra e 5 mL de HNO_3 em frascos de decomposição de alta pressão a 130 ºC por 90 min. Ambos os métodos de decomposição apresentaram recuperações quantitativas (≥ 95%). Entretanto os autores observaram maior desvio padrão e menor recuperação no método por via seca.

Em um estudo com mel, Tüzen *et al*.[113] determinou Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se e Zn por F AAS e GF AAS, comparando a decomposição por via seca, via úmida em sistema aberto e sistema fechado assistido por micro-ondas. Os autores observaram diferenças significativas entre os resultados obtidos pela decompoisção por via seca em relação aos demais métodos. Além disso, o método empregando a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas foi o que apresentou maior recuperação dos analitos.

---

[50] **Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 1021- 1038.**
[32] **Coni, E., Bocca, A., Coppolelli, P., Caroli, S., Cavallucci, C., Marinucci, M. T., *Food Chem.* 57 (1996) 253 - 260.**
[112] **Tüzen, M., *Food Chem.* 80 (2003) 119 - 123.**
[113] **Tüzen, M., Silici, S., Mendil, D., Soylak, M., *Food Chem.* 103 (2007) 325 - 330.**

Saracoglu *et al*.[100] determinaram Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Se e Zn por GF AAS em alimentos especiais para bebês, comparando a decomposição por via seca, por via úmida em sistema aberto e assistido por micro-ondas. Na decomposição por via seca (500 ºC por 16 h) foram observadas perdas de Se. Desta forma, a decomposição em sistema fechado assistido por micro-ondas foi considerada a mais adequada devido à maior precisão, menor tempo e maior recuperação de analitos.

As principais vantagens da decomposição por via seca são a simplicidade, ampla aplicação, capacidade de manipular grandes quantidades de amostra (até 20 g), utilização de instrumentação geralmente disponível nos laboratórios e possibilidade do tratamento de várias amostras ao mesmo tempo sem requerer a contínua presença do operador.[27,50,61,78,116] Além disso, as cinzas resultantes são livres de matéria orgânica, o que é pré-requisito para algumas técnicas analíticas como ICP-MS e ICP OES, cujas determinações podem ser afetadas pela presença de matéria orgânica.[50]

Entretanto, vários inconvenientes podem ser observados. Apesar de haver algumas contradições na literatura, a perda de elementos por volatilização pode ser significativa.[8,100,116] Alguns elementos como As, Hg e Se estão sujeitos a perdas por volatilização durante a calcinação[50,116] devido à formação de compostos voláteis como cloretos ou oxicloretos.[15,27] O grau de perdas por volatilização é um fator limitante e depende da temperatura aplicada, da forma em que o analito está presente na amostra e do ambiente químico no estágio da incineração. Outros inconvenientes são a demora e a propensão à contaminação.[60] Além disso, a adição de auxiliares de incineração aumenta significativamente o teor de sais inorgânicos

---

[100] **Saracoglu, S., Saygi, K. O., Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Soylak, M., *Food Chem.* 105 (2007) 280 - 285.**
[27] **Cervera, M. L., Lopez, J. C., Montoro, R., *Microchem. J.* 49 (1994) 20 - 26.**
[50] **Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 1021- 1038.**
[61] **Korn, M. G. A., Boa Morte, E. S., Santos, D. C. M. B., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., Santos, W. P. C., Santos, E. B. G. N., Korn, M., *Appl. Spectrosc. Rev.* 43 (2008) 67 - 92.**
[78] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Anal. Chim. Acta* 565 (2006) 81 - 88.**
[116] **Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 187 - 196.**
[8] **Barin, J. S., Desenvolvimento de procedimentos alternativos de preparo e de determinação de metais pesados em fármacos tricíclicos, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFSM, Santa Maria - RS, 2007.**
[15] **Boutakhrit, K., Claus, R., Bolle, F., Degroodt, J. M., Goeyens, L., *Talanta* 66 (2005) 1042 - 1047.**
[60] **Kira, C. S., Maihara, V. A., *Food Chem.* 100 (2007) 390 - 395.**

que impede determinações por ICP-MS[50] ou pode contribuir para contaminação causando brancos elevados e dificultando a determinação de elementos traços.[61]

2.2.1.2. Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas

A decomposição em sistema fechado por MIC foi proposta primeiramente por Barin[9] para a determinação de metais em produtos farmacêuticos. Posteriormente, Mesko[75] propôs este método para preparo de amostras biológicas. Nesta técnica são usados frascos de quartzo comerciais e a amostra é inserida, na forma de *pellet*, em um suporte sobre um disco de papel, ao qual é adicionada uma solução de nitrato de amônio, utilizada como iniciador do processo de combustão. O frasco é fechado, pressurizado e colocado no interior de um forno de micro-ondas comercial. A ignição da amostra ocorre pela irradiação com micro-ondas e os analitos são recolhidos em uma solução absorvedora na base do frasco.[9,75]

Na determinação de Cu e Zn em amostras de fígado bovino e leite em pó por Mesko,[75] o tempo de irradiação com micro-ondas foi de 30 s e o tempo de combustão para 100 mg da amostra foi de aproximadamente 10 s. O método foi considerado adequado e a concordância com CRMs foi de 93 a 104%. As vantagens deste procedimento foram o baixo teor de carbono residual, o mínimo consumo de ácido e a completa decomposição da amostra em um tempo inferior ao necessário para os demais procedimentos.

Este método permite a aplicação de uma etapa de refluxo da solução absorvedora, propiciando maior eficiência na lavagem do sistema e consequente melhora na solubilização dos analitos. Além disso, brancos relativamente baixos são obtidos. Como inconvenientes, pode ser citada a necessidade de que as amostras sejam prensadas previamente à queima.[62]

---

[50] **Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 1021- 1038.**

[61] **Korn, M. G. A., Boa Morte, E. S., Santos, D. C. M. B., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., Santos, W. P. C., Santos, E. B. G. N., Korn, M., *Appl. Spectrosc. Rev.* 43 (2008) 67 - 92.**

[9] **Barin, J. S., Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por micro-ondas. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas, UFSM, Santa Maria - RS, 2003.**

[75] **Mesko, M. F., Combustão iniciada por micro-ondas em sistema fechado para decomposição de amostras biológicas, Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Química, UFSM, Santa Maria - RS, 2004.**

[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**

2.2.2. Decomposição por via úmida

Os métodos de decomposição de amostra por via úmida podem incluir o emprego de um ou mais tipos de ácidos, realizados em frascos abertos ou em frascos fechados com alta pressão (bombas de decomposição), com aquecimento convencional ou por micro-ondas.[61]

O tipo de ácido usado no preparo de amostras pode ter importantes consequências na etapa de medida.[61] O sucesso das análises dependerá, dentre outros fatores, da escolha dos reagentes, suas combinações e concentrações. Os principais reagentes usados para destruição da matéria orgânica são HNO_3, H_2SO_4, $HClO_4$ e H_2O_2.[50]

O HNO_3 é considerado um dos ácidos mais adequados para as técnicas de espectrometria atômica[50] e é comumente utilizado em análises de alimentos.[23] As vantagens são o forte poder oxidante e a solubilidade dos nitratos em água.[62] O ponto de ebulição de 120 ºC corresponde a uma limitação da sua eficiência e por isso em alguns casos é usado na presença de H_2SO_4 (para elevar o ponto de ebulição da mistura), $HClO_4$ (depois da oxidação com ácido nítrico) ou H_2O_2 (pelas suas propriedades oxidantes).[50]

O H_2SO_4 permite a decomposição sob elevadas temperaturas, entretanto, o seu uso é indesejável particularmente em técnicas onde a introdução da amostra é por nebulização. Já o $HClO_4$, apesar de apresentar elevada capacidade de oxidação, oferece riscos ao operador e o seu uso não tem sido recomendado. Misturas de ácidos, principalmente com H_2O_2, são muito eficientes na decomposição da matéria orgânica aumentando o poder oxidante do ácido.[62] O HCl também pode ser empregado como auxiliar de decomposição, mas o seu uso não é adequado para determinações por GF AAS, pois a possível formação de cloretos de analitos

---

[61] **Korn, M. G. A., Boa Morte, E. S., Santos, D. C. M. B., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., Santos, W. P. C., Santos, E. B. G. N., Korn, M., *Appl. Spectrosc. Rev.* 43 (2008) 67 - 92.**

[50] **Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 1021- 1038.**

[23] **Buldini, P. L., Ricci, L., Sharma, J. L., *J. Chromatogr.* A 975 (2002) 47 - 70.**

[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**

voláteis e de difícil dissociação pode causar interferência espectral e/ou em fase de vapor.[120]

A decomposição por via úmida tem sido amplamente utilizada para preparo de amostras de alimentos devido a sua simplicidade, rapidez, flexibilidade em relação à massa de amostra e condições de decomposição e menor propensão a perdas por volatilização ou retenção como por via seca.[62,78]

A seguir, serão discutidos os procedimentos de decomposição por via úmida em sistema aberto (com aquecimento convencional e assistido por micro-ondas) e sistema fechado (com aquecimento convencional e assistido por micro-ondas).

2.2.2.1. Decomposição por via úmida em sistema aberto

Os sistemas abertos empregam frascos como vidro ou politetrafluoretileno (PTFE), com ou sem condensadores de refluxo, e aquecimento por meio de fonte convencional (chapa aquecedora ou bloco digestor).[50]

A decomposição por via úmida em sistema aberto permite o processamento de um grande número de amostras, empregando um sistema simples e de baixo custo.[60] No entanto, é mais suscetível a erros sistemáticos em virtude da possibilidade de perdas ou contaminação. Adicionalmente, apresenta algumas limitações relacionadas à eficiência de decomposição, aos níveis dos brancos e, ainda, com a concentração de ácido remanescente nos digeridos.[116]

2.2.2.1.1. Decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional

O aquecimento convencional em sistemas abertos pode ser feito em chapa aquecedora ou bloco digestor. Na literatura têm sido reportados diversos trabalhos que empregam este sistema de decomposição para amostras de alimentos. Demirel

---

[120] **Welz, B., Sperling, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3ª Ed., Alemanha, 1999.**
[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**
[78] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Anal. Chim. Acta* 565 (2006) 81 - 88.**
[50] **Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 1021- 1038.**
[60] **Kira, C. S., Maihara, V. A., *Food Chem.* 100 (2007) 390 - 395.**
[116] **Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 187 - 196.**

et al.[35] propuseram a decomposição de fígado bovino à temperatura de 130 ºC por 4 h, utilizando cerca de 1 g de amostra e misturas de ácidos. Os elementos Cu, Fe, Mn e Zn foram determinados por F AAS e Al e Se por GF AAS. A recuperação por adição de analito foi satisfatória (92 a 96%), com exceção de Se, o que foi atribuído a elevada volatilidade deste elemento.

Boutakhrit *et al*.[15] empregaram o sistema aberto para a decomposição de frutos do mar à temperatura de 350 ºC. Foi feita a decomposição de 1 g de amostra sob refluxo em bloco digestor com 5 mL de HNO_3 e 3 mL de H_2SO_4 com aumento gradual de temperatura até 350 ºC em 90 min. Após o resfriamento, foram adicionados 3 mL de H_2O_2 e a temperatura elevada a 400 ºC, mantendo-a por 4 h. A determinação de As foi feita por ICP OES com geração de hidretos. A recuperação por adição de analito foi de 98,4 - 101,8%.

Iwegbue *et al*.[53] efetuaram a decomposição de amostras de carne em sistema aberto para posterior determinação de Cd, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn por GF AAS. Cerca de 2 g de amostra foram colocados em tubos de decomposição e pré-digeridas com 10 mL de HNO_3 concentrado a 135 ºC até a obtenção de uma solução clara. Em seguida, uma mistura de 10 mL de HNO_3, 1 mL de $HClO_4$ e 2 mL H_2O_2 foram adicionados, mantendo a temperatura a 135 °C por 1 h. A recuperação por adição de analito nas amostras foi superior a 92,4%.

Damin *et al.*[34] utilizaram bloco digestor para decomposição de amostras de carne para posterior determinação de Cd e Pb por GF AAS. O procedimento consistiu na decomposição de cerca 2 g de amostra *in natura* com 5 mL de HNO_3, a 90 ºC por 1 hora. A solução permaneceu em repouso *overnight* e, posteriormente, foram adicionados 2 mL de H_2O_2 mantendo o aquecimento por mais 1 hora. Segundo os autores, este método tem sido aplicado pelo Ministério da Agricultura do Brasil para determinação de elementos traços em carne, rim e fígado.

Momen *et al*.[78] investigaram quatro diferentes procedimentos de decomposição para a determinação de Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn e Pb em

---

[35] **Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.**
[15] **Boutakhrit, K., Claus, R., Bolle, F., Degroodt, J. M., Goeyens, L., *Talanta* 66 (2005) 1042 - 1047.**
[53] **Iwegbue, C. M. A., Nwajei G. E., Iyoha E. H., *Bulg. J. Vet. Med.* 11 (2008) 275 - 280.**
[34] **Damin, I. C. F., Silva, M. M., Vale, M. G. R., Welz, B., *Spectrochim. Acta Part B* 62 (2007) 1037 - 1045.**
[78] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Anal. Chim. Acta* 565 (2006) 81 - 88.**

leguminosas por ICP OES: via úmida com HNO_3/H_2SO_4 e $HNO_3/H_2SO_4/H_2O_2$ e por via seca utilizando $Mg(NO_3)_2$ e $Mg(NO_3)_2/HNO_3$. O procedimento por via úmida utilizando a mistura $HNO_3/H_2SO_4/H_2O_2$ apresentou maior exatidão e reprodutibilidade, indicando que o H_2O_2 é importante para a decomposição mais efetiva de amostras de alimentos ricos em carboidratos e gorduras.

Momen *et al*.[79] também avaliaram as misturas de ácidos HNO_3/H_2SO_4 e $HNO_3/H_2SO_4/H_2O_2$ para decomposição de amostras de nozes. Foram feitos planejamentos experimentais e variáveis como volume de ácido e tempo de decomposição foram consideradas as mais importantes. A mistura de $HNO_3/H_2SO_4/H_2O_2$ foi recomendada por apresentar melhor recuperação dos analitos.

2.2.2.1.2. Decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento por micro-ondas

A radiação micro-ondas tem sido amplamente empregada nos últimos anos para preparo de amostras. A absorção da radiação micro-ondas em solução é causada por mecanismos de rotação de dipolo molecular ou migração iônica,[5,23] que aquecem a solução mais rapidamente quando comparado aos processos de condução e convecção que ocorrem nos sistemas convencionais, tornando o procedimento mais rápido.[23] A eficiência de decomposição está relacionada ao aumento da pressão e da temperatura que acarreta aumento da velocidade da reação. As reações são controladas pela temperatura dos ácidos enquanto que a pressão no frasco digestor é dada pela combinação das pressões parciais dos ácidos, da água e dos gases obtidos no processo de decomposição.[5]

As principais vantagens do uso de radiação por micro-ondas em sistemas abertos são a segurança devido à operação em pressão atmosférica, adição programada de reagentes em qualquer tempo de digestão, versatilidade, manipulação de grandes quantidades de amostra e a possibilidade de operar cada frasco individualmente.[83]

---

[79] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Talanta* 71 (2007) 443 – 451.**
[5] **Arruda, M. A. Z., Santelli, R. E., *Quím. Nova* 20 (1997) 638 - 643.**
[23] **Buldini, P. L., Ricci, L., Sharma, J. L., *J. Chromatogr. A* 975 (2002) 47 - 70.**
[83] **Nóbrega, J. A., Trevizan, L. C., Araújo, G. C. L., Nogueira, A. R. A., *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 1855 - 1876.**

Matos *et al*.[70] propuseram a decomposição parcial de tecido bovino utilizando radiação micro-ondas para posterior determinação de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn por ICP OES. Micro-frascos de PTFE inseridos em um esterilizador foram utilizados para decomposição em micro-ondas doméstico. A melhor condição foi obtida aplicando a potência de 650 W por 7 min para a decomposição de cerca de 50 mg de amostra com 50 µL de HNO_3. O método proposto foi comparado com a decomposição em sistema fechado assistido por micro-ondas. A concordância com CRM foi de 93 a 114% empregando o sistema de aquecimento com micro-ondas.

Liu *et al*.[63] propuseram a decomposição de amostras biológicas por via úmida em sistema aberto com micro-ondas focalizados. Cerca de 10 g de amostra foram decompostas com HNO_3 através de ciclos de aquecimento na potência de 240 W. A recuperação por adição de analito (As, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni, Se, Sr e Zn) foi superior a 96%. Segundo os autores, a principal vantagem do método foi permitir o emprego de grandes quantidades de amostra.

2.2.2.2. Decomposição por via úmida em sistema fechado

Os sistemas fechados permitem o aumento do ponto de ebulição dos ácidos inorgânicos normalmente empregados aumentando, desta forma, o seu poder de oxidação.[62] As principais vantagens do sistema fechado em relação aos sistemas abertos são a menor propensão a perdas por volatilização, menor risco de contaminação, baixo consumo de ácido e procedimentos mais reprodutíveis.[35,100,113]

2.2.2.2.1. Decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional

Os sistemas fechados com aquecimento convencional consistem, basicamente, de frascos de PTFE envolvidos por uma jaqueta de aço inoxidável,

[70] **Matos, W. O., Menezes, E. A., Gonzalez, M. H., Costa, L. M., Trevizan, L. C., Nogueira, A. R. A., *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 615 - 618.**
[63] **Liu, J., Sturgeon R. E., Willie, S. N., *Analyst* 120 (1995) 1905 – 1909.**
[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**
[35] **Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.**
[100] **Saracoglu, S., Saygi, K. O., Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Soylak, M., *Food Chem.* 105 (2007) 280 - 285.**
[113] **Tüzen, M., Silici, S., Mendil, D., Soylak, M., *Food Chem.* 103 (2007) 325 - 330.**

normalmente apresentando sistemas de segurança para alívio da pressão. As temperaturas utilizadas para a decomposição estão associadas ao material do frasco de reação: o PTFE, dependendo da qualidade, permite empregar temperaturas entre 160 e 200 ºC. Já os frascos de quartzo possibilitam utilizar temperaturas acima de 200 ºC.[62]

Outro sistema desenvolvido é o de decomposição a altas temperaturas, denominado *High Pressure Asher* (HPA). As pressões de vapor do ácido e dos gases resultantes da reação com a matéria orgânica, a 300 ºC, dentro do frasco de quartzo é equilibrada por uma pressão externa maior que 100 bar com N_2. O frasco de digestão de quartzo é fechado por uma tampa de quartzo sobre um anel de vedação de PTFE. Este pode ser aquecido até 320 ºC em uma autoclave sob uma pressão externa de 100 bar. Com este equipamento é possível obter soluções livres de carbono, dispensando tratamentos adicionais. Adicionalmente, nestas soluções os analitos estarão na forma inorgânica, e várias técnicas analíticas podem ser empregadas para as determinações.[62]

Vassileva *et al*.[116] avaliaram a eficiência de procedimentos de decomposição por via úmida, comparando o sistema HPA com o sistema aberto e fechado, assistidos por micro-ondas. A completa decomposição de amostras biológicas somente foi alcançada empregando o sistema HPA, que permitiu atingir temperaturas de 300 ºC. Nesta condição foi obtido teor de carbono orgânico < 0,1%.

2.2.2.2.2. Decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas

A principal vantagem desta técnica sobre a técnica de aquecimento convencional é a rapidez de decomposição.[35,100,113] Diversos trabalhos na literatura têm utilizado a radiação micro-ondas em sistema fechado para a decomposição de amostras biológicas.

---

[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**
[116] **Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 187 - 196.**
[35] **Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.**
[100] **Saracoglu, S., Saygi, K. O., Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Soylak, M., *Food Chem.* 105 (2007) 280 - 285.**
[113] **Tüzen, M., Silici, S., Mendil, D., Soylak, M., *Food Chem.* 103 (2007) 325 - 330.**

Mendil *et al*.[74] determinaram metais em tecidos de peixes por F AAS e GF AAS. Cerca de 0,5 g de amostra foram decompostas com 6 mL de HNO_3 (65% m/m) e 2 mL de H_2O_2 (30% m/m) em um forno micro-ondas na potência máxima de 550 W. A recuperação por adição de analito foi quantitativa (> 95%).

Cid *et al*.[29] propuseram um método rápido de decomposição de tecido de peixe. Os metais avaliados foram Cd, Cu, Ni e Pb por GF AAS e Zn por F AAS. A decomposição foi realizada com cerca de 800 mg de amostra *in natura*, 4 mL de HNO_3 (65% m/m) e 1 mL de água ultrapura a 325 W por 120 s. Os resultados obtidos apresentaram concordância de 97 a 105% com os valores dos CRMs.

Shah *et al*.[101] determinaram As em carne de frango após decomposição por micro-ondas na potência de 900 W. A determinação foi feita por GF AAS e HG AAS. Cerca de 200 mg de amostra foram transferidos para frascos de PTFE, seguido da adição de 2 mL da mistura HNO_3 e H_2O_2 (2:1 v/v). A concordância com CRM foi de 100,6 e 99,4% para HG AAS e GF AAS, respectivamente.

Demirel *et al*.[35] avaliaram diferentes procedimentos de decomposição (por via seca, por via úmida em sistema aberto e por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas). O procedimento de decomposição por micro-ondas foi escolhido, pois apresentou melhor exatidão, menor tempo de preparo e melhor recuperação (especialmente para alguns elementos voláteis).

Gonzalez *et al*.[47] propuseram um método empregando soluções diluídas de ácido para o preparo de amostras com aquecimento por micro-ondas (rampa de 250, 650, 850 e 1000 W de potência). Cerca de 200 mg de amostras de sangue, músculo e vísceras de bovino foram decompostas com 2 mL de solução de HNO_3 em diferentes concentrações (2, 7 e 14 mol L^{-1}) e 1 mL de H_2O_2 (30% m/m). A determinação de Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn foi feita por ICP OES. Os autores observaram que ácidos diluídos podem ser utilizados, no entanto a decomposição pode ser incompleta, resultando em elevados valores de carbono residual.

---

[74] **Mendil, D., Uluozlu, O. D., Hasdemir, E., Tuzen, M., Sari, H., Suiçmez, M., *Food Chem.* 90 (2005) 175 - 179.**
[29] **Cid, B. P., Boia, C., Pombo, L., Rebelo, E., *Food Chem.* 75 (2001) 93 - 100.**
[101] **Shah, A. Q., Kazi, T. G., Arain, M. B., Jamali, M. K., Afridi, H. I., Jalbani, N., Kandhro, G. A., Baig, J. A., Sarfraz, R. A., Ansari, R. *Food Chem.* 113 (2009) 1351 - 1355.**
[35] **Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.**
[47] **Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nobrega, J. A., Nogueira, A. R. A., *Talanta* 79 (2009) 396 - 401.**

Uluozlu *et al*.[114] determinaram Al, As, Cd, Co, Cr, Ni, Pb e Se por GF AAS em carne de frango após decomposição em sistema fechado assistido por micro-ondas. Cerca de 1 g de amostra foi decomposto com 6 mL de HNO_3 (65% m/m) e 2 mL de H_2O_2 (30% m/m). A pressão e temperatura máxima do sistema de micro-ondas foi de 1450 psi e 300 ºC, respectivamente. A exatidão do método foi avaliada empregando CRMs, cuja concordância com os valores certificados foi de 96 a 102%.

2.2.3. Solubilização, extração e preparo de suspensões

Na análise de extratos concentrados, suspensões ou procedimentos de solubilização, há redução dos riscos de contaminação e do tempo de análise, permitindo também baixa diluição e baixos limites de detecção.[44,90] Entretanto, vários requisitos têm sido considerados críticos para a análise de suspensões, tais como, homogeneidade, solução diluente, concentração e razão entre a massa de amostra e volume de diluente.[24]

Muitas vezes, para a completa solubilização é necessário que haja um sistema eficiente de agitação para evitar a agregação das partículas. A agitação pode ser efetuada manualmente ou através de sistemas empregando agitação mecânica, magnética, vortex, borbulhamento e ultra-sônica.[24] As massas diminutas também tendem a comprometer a representatividade, contudo, em procedimentos de solubilização, geralmente 100 a 500 mg de amostra são empregados e, nestes casos, não deve gerar erros associados à falta de homogeneidade da amostra.[85]

Diferentes diluentes têm sido relatados para extração, solubilização ou preparo de suspensões, tais como soluções ácidas, agentes oxidantes e soluções fortemente alcalinas. Na literatura podem ser observados vários trabalhos em que foi utilizada a extração ou preparo de suspensões com soluções ácidas. Entre as

---

[114] **Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Mendil, D., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 163 (2009) 982 - 987.**
[44] **Giacomelli, M. B. O., Lima, M. C., Stupp, V., Carvalho, R. M. J., Silva, J. B. B., Barrera, P. B., *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2151 - 2157.**
[90] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 1101 - 1105.**
[24] **Cal-Prieto, M. J., Felipe-Sotelo, M., Carlosena, A., Andrade, J. M., López-Mahía P., Muniategui, S., Prada, D., *Talanta* 56 (2002) 1 - 51.**
[85] **Nomura, C. S., Silva, C. S., Oliveira, P. V., *Quim. Nova* 31 (2008) 104 - 113.**

aplicações encontram-se amostras de suplementos vitamínicos,[109] vegetais,[117] mel,[66] sedimentos,[6] farinha de trigo,[26] e produtos lácteos.[73]

2.2.3.1. Solubilização em meio alcalino com TMAH

A maioria dos procedimentos de preparo de amostras é baseada no uso de ácidos concentrados para promover decomposições, especialmente em condições de alta temperatura e pressão.[82] Entretanto, o uso de TMAH, aminas terciárias e reagentes fortemente alcalinos, envolvendo procedimentos de preparo de amostras vêm sendo empregados com sucesso, especialmente em procedimentos de extração, solubilização e preparo de suspensões.[11,69,71,102,110]

O TMAH, de fórmula $(CH_3)_4NOH$, é uma solução alcalina (pH de 13,4 a 14,7) e encontra-se comercialmente disponível na concentração de 25% (m/v) em água, 25% (m/v) em metanol ou 10% (m/v) em soluções aquosas.[82] É uma base orgânica forte, solúvel em água ou alcoóis resultando em soluções incolores com odor de amina capazes de complexar e estabilizar elementos voláteis.[82,71,110]

As amostras biológicas tratadas com TMAH fornecem uma solução com características de suspensão.[44,90] Este reagente promove a clivagem de proteínas em fragmentos menores, facilitando a dissolução.[86] O TMAH também é capaz de causar cisão hidrolítica e metilação de éster, amida, e algumas ligações éter.[82]

---

[109] **Tokman, N., *J. Hazard. Mat.* 143 (2007) 87 - 94.**
[117] **Viñas, P., Campilio, N., López-Garcia, I., Hernández-Córdoba, M., *Food Chem.* 50 (1994) 317 - 321.**
[66] **López-García, I., Viñas, P., Romero-Romero, R., Hernández-Córdoba, M., *Spectrochim. Acta Part B* 62 (2007) 48 - 55.**
[6] **Barałkiewicz, D., *Talanta* 56 (2002) 105 - 114.**
[26] **Cernohorsky, T., Krejová, A., Pouzar, M., Vavrusova, L., *Food Chem.* 106 (2008) 1246 - 1252.**
[73] **McKinstrya, P. J., Indyka, H. E., Kimb, N. D., *Food Chem*. 65 (1999) 245 - 252.**
[82] **Nóbrega, J. A., Santos, M. C., Sousa, R. A., Cadore, S., Barnes, R. M., Tatro, M., *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 465 - 495.**
[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.**
[69] **Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.**
[71] **Matusiewicz, H., Golik, B., *Microchem. J.* 76 (2004) 23 - 29.**
[102] **Silva, J. B. B., Borges, D. L. G., Veiga, M. A. M. S., Curtius, A. J., Welz, B., *Talanta* 60 (2003) 977 - 982.**
[110] **Torres, D. P., Frescura, V. L. A., Curtius, A. J., *Microchem. J.* 93 (2009) 206 - 210.**
[44] **Giacomelli, M. B. O., Lima, M. C., Stupp, V., Carvalho, R. M. J., Silva, J. B. B., Barrera, P. B., *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2151 - 2157.**
[90] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 1101 - 1105.**
[86] **Nunes, J. A., Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Ni, Pb, e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino, Universidade de São Paulo, Dissertação de mestrado, 2009.**

A eficiência na solubilização do analito está associada ao tipo de matriz, ao tipo e tamanho da partícula sólida, à concentração do solvente, homogeneização e tempo.[24] O TMAH permite dissolução completa dependendo do tipo de amostra, e a extração pode ser realizada a temperatura ambiente ou com aquecimento.[82]

Uma das vantagens do uso de solução alcalina em procedimentos de preparo de amostra é a possibilidade de especiação de elementos, pois não ocorre modificação do estado de oxidação do analito.[82] Como inconvenientes destacam-se o odor, alta viscosidade,[69] impurezas e a dificuldade de purificação do reagente.[90]

Nas aplicações do TMAH em determinações por GF AAS deve-se ter precaução na seleção do modificador para que este seja compatível com o meio alcalino.[82] De acordo com Ribeiro *et al.,*[93] o uso de solução ácida de Pd pode resultar na formação de precipitado, exigindo programas específicos, no qual soluções de TMAH e de modificador devem ser adicionados separadamente no tubo de grafite. Contudo, a determinação por GF AAS apresenta como vantagem a durabilidade do tubo de grafite em virtude do TMAH não ser agressivo ao tubo.[93]

Na revisão sobre aplicações de preparo de amostra em meio alcalino, Nóbrega *et al.*[82] relataram que na maioria dos estudos, o uso de TMAH proporcionou satisfatória precisão, exatidão e bom desempenho instrumental.

Na literatura são reportados trabalhos com a utilização de diferentes tratamentos para solubilização. Damin[33] desenvolveu um método de preparo diretamente no copo do amostrador de GF AAS, utilizando cerca de 40 mg de amostra de carne *in natura*, 200 µL de TMAH 25% (m/v) e 500 µL de água.

A solubilização *overnight* à temperatura ambiente tem sido utilizada, porém, o aquecimento em banho-maria tem a vantagem de agilizar o processo de solubilização. Martins *et al*.[69] observaram que 150 µg de TMAH 25% (m/v) foram suficientes para solubilizar 250 mg de músculo e fígado em banho-maria a 60 - 70 ºC

---

[24] **Cal-Prieto, M. J., Felipe-Sotelo, M., Carlosena, A., Andrade, J. M., López-Mahía P., Muniategui, S., Prada, D., *Talanta* 56 (2002) 1 - 51.**

[82] **Nóbrega, J. A., Santos, M. C., Sousa, R. A., Cadore, S., Barnes, R. M., Tatro, M., *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 465 - 495.**

[69] **Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.**

[90] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 1101 - 1105.**

[93] **Ribeiro, A. S., Curtius, A. J., Pozebon, D., *Microchem. J.* 64 (2000) 105 - 110.**

[33] **Damin, I. C. F., Investigação da amostragem direta para determinação de elementos traço em carne in natura e em petróleo usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFRGS, Porto Alegre - RS, 2009.**

por 60 min. Silva *et al*.[102] solubilizaram cerca de 100 mg de CRM de amostras biológicas com 2 mL de solução de TMAH 25% (m/v), a 60 ºC por 1 h. Giacomelli *et al.,*[44] solubilizaram CRMs de amostras biológicas empregando cerca de 300 mg de amostra e 1,2 mL de TMAH 25% (m/v) em banho-maria a 60 ºC por 10 min.

A energia ultra-sônica também pode ser empregada para auxiliar na solubilização. Silva *et al.,*[103] avaliaram a solubilização, com auxílio de energia ultrassom, de cerca de 250 mg de amostra de CRMs de amostras biológicas com 4 mL de TMAH 25% (m/v). Na Tabela 2 são mostrados alguns trabalhos da literatura sobre o preparo de amostras biológicas com TMAH e posterior determinação de elementos empregando técnicas de espectrometria atômica.

---

[102] **Silva, J. B. B., Borges, D. L. G., Veiga, M. A. M. S., Curtius, A. J., Welz, B., *Talanta* 60 (2003) 977 - 982.**
[44] **Giacomelli, M. B. O., Lima, M. C., Stupp, V., Carvalho, R. M. J., Silva, J. B. B., Barrera, P. B., *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2151 - 2157.**
[103] **Silva, R. G. L., Willie, S. N., Sturgeon, R. E., Santelli, R. E., Sella, S. M., *Analyst*, 124 (1999) 1843 -1846.**

Tabela 2. Trabalhos descritos na literatura sobre o preparo de amostras biológicas com TMAH e posterior determinação de elementos empregando técnicas de espectrometria atômica

Matriz	Elementos	Preparo da amostra	Técnica	Modificador químico	Comentários segundo os autores	Referências
Carnes	Cd e Pb	Preparo direto no amostrador automático	GF AAS	Pd/Mg Pd/NH_4NO_3	Rapidez no preparo e menor propensão a contaminação.	Damin[33]
CRMs (leite em pó desnatado, fígado e músculo bovino)	Ag, Cd, Cr, Cu, Ni e Pb	Aquecimento em banho-maria a 60 - 70 ºC	GF AAS	Rh , Pd, Ir, Mg, $(NH_4)H_2PO_4$, Pd/Mg e Pd/$(NH_4)H_2PO_4$	Simplicidade no preparo e extensão da vida útil do tubo de grafite.	Martins *et al.*[69]
CRMs (cabelo, sangue e marinhos)	Cd	Aquecimento em banho-maria 60 ºC	GF AAS	Ru	O uso de Ru ao invés de Pd foi vantajoso por não requerer um programa especial para adicionar o modificador e TMAH separadamente.	Silva *et al.*[102]
CRMs (marinhos)	Cd, Cr, Cu, Mn, Ni e Pb	Tratamento com ultrassom ou temperatura ambiente.	GF AAS	Pd/$Mg(NO_3)_2$ $Mg(NO_3)_2$ + $(NH_4)H_2PO_4$	Estocagem por 3 anos a temperatura ambiente sem qualquer alteração na concentração dos analitos.	Silva *et al.*[103]
CRM (músculo de peixe)	As, Cd, Pb e Se	Aquecimento em banho-maria	GF AAS	Ir/Rh e Pd/Mg	A calibração foi feita com soluções aquosas de HNO_3 0,2% v/v.	Giacomelli *et al.*[44]
CRM (unhas)	As, Cd, Ni e Pb	Aquecimento em banho-maria a 60 - 70 ºC	GF AAS	Pd Pd/$(NH_4)H_2PO_4$	As soluções (calibração, TMAH e modificador) foram adicionadas separadamente no tubo de grafite para evitar a precipitação.	Ribeiro *et al.*[93]

Matriz	Elementos	Preparo da amostra	Técnica	Modificador químico	Comentários segundo os autores	Referências
CRMs (marinhos, cabelo e fígado)	Co	Temperatura ambiente	GF AAS	$(NH_4)H_2PO_4$	Simplicidade e rapidez.	Ribeiro *et al.*[94]
Unhas	Cd, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn	Temperatura ambiente e centrifugação	GF AAS ICP-MS	Ir	Maior frequência de análise em comparação com a decomposição convencional.	Batista *et al.*[12]
CRMs (marinhos, leite e fígado)	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Sr e Zn	Tratamento com ultrassom.	MIP-OES	-	Rapidez, baixa diluição da amostra e baixos valores de branco.	Matusiewics & Golik[71]
CRMs (fígado bovino, marinhos, plantas, farinha e ovo em pó)	Al, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, K, Na e Zn.	Temperatura ambiente e centrifugação	ICP-MS	-	Método considerado rápido (< 40 min) e de alta capacidade de processamento de amostras.	Nóbrega *et al.*[81]
	As, Ba, Ca, Cu, Pb, Mn, Mo, Rb, Se, Cr e Zn		ICP OES			
Fígado, rim, coração e cérebro de ratos	Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Pb, Sb, Se, Sr, V e Zn	Temperatura ambiente ou aquecimento em banho-maria a 50 - 60 ºC	ICP-MS	-	Método simples e desprovido de instrumentação cara.	Batista *et al.*[11]
CRM (cabelo humano)	Ag, As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni, Pb, Pt, Se, Tl U e Zn	Temperatura ambiente.	ICP-MS	-	Método confiável e rápido (500 amostras podem ser analisadas em 3 dias).	Rodrigues *et al.*[96]
CRMs (leite, ovo, músculo, rim)	I	Aquecimento em banho-maria a 90 ºC.	ICP-MS	-	Método simples e preciso.	Fecher *et al.*[41]

Matriz	Elementos	Preparo da amostra	Técnica	Modificador químico	Comentários segundo os autores	Referências
CRMs (tecido de ostra, folhas, músculo bovino e ovo em pó)	Ag, As, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Te e V	Temperatura ambiente ou aquecimento em banho-maria a 90 °C.	ETV-ICP-MS	Pd e Ir	Cr e Cd não puderam ser determinados na amostra de músculo bovino, devido a interferências espectrais e efeitos de matriz, respectivamente.	Pozebon *et al*.[90]
CRMs (Fígado bovino e músculo de peixe)	Ag, Cd, Hg, Pb e Tl	Aquecimento em banho-maria a 100 °C.	ETV-ICP-MS	Ir	Devido à simplicidade da dissolução com TMAH, o preparo foi considerado muito atrativo.	Pozebon *et al*.[91]
CRMs (marinhos)	Hg	Temperatura ambiente	ETV-ICP-MS	-	O método permitiu especiação de Hg.	Willie *et al.*[122]
Sangue	Hg	Temperatura ambiente	FI-CV ICP-MS	-	Método considerado simples e de fácil aplicação para laboratórios de rotina.	Rodrigues *et al.*[97]
CRMs (marinhos)	Hg	Temperatura ambiente	CV AAS	-	Minimização do risco de perdas, contaminação e grande capacidade de processamento (100 amostras/h)	Tao *et al.*[107]
CRMs (marinhos)	Hg	Temperatura ambiente	CV AAS	-	Método sensível e simples.	Park & Do[89]
CRMs (rim suíno e marinhos)	Hg	Temperatura ambiente	CV AAS	-	Método adequado para análises de fracionamento de Hg.	Torres *et al.*[110]
Peixes	Hg	Aquecimento em banho-maria a 70 ºC e tratamento com ultrassom	FI-CV-AFS	-	Baixa recuperação (67%) e formação de dimetil-mercúrio, que levou a erros na determinação de espécies de mercúrio.	Ortiz *et al.*[88]

Portanto, a solubilização com TMAH pode ser uma interessante alternativa aos métodos convencionais de decomposição ácida, oferecendo as vantagens de diminuir os riscos de perdas por volatilização e a propensão à contaminação.[11,71] Além disso, é atraente para os laboratórios não equipados com sistemas de decomposição, tais como forno micro-ondas.[71]

2.3. DETERMINAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM ALIMENTOS

2.3.1. Técnicas de espectrometria atômica

Dentre as técnicas de espectrometria atômica, diferentes princípios físicos têm sido explorados para a determinação de vários elementos, como absorção, emissão ou fluorescência atômica, difração de raios-X, ativação neutrônica, entre outras. Entretanto, dentre as técnicas comumente empregadas na análise elementar em alimentos pode-se destacar a F AAS,[29,35,74,113] GF AAS,[35,44,69,74,93,94,100,102,103,112,113] espectrometria de absorção atômica com geração química de vapor (CVG AAS),[7,88,89,107,110] ICP OES[15,32,71,78,79] e

---

[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.**
[71] **Matusiewicz, H., Golik, B., *Microchem. J.* 76 (2004) 23 - 29.**
[29] **Cid, B. P., Boia, C., Pombo, L., Rebelo, E., *Food Chem.* 75 (2001) 93 - 100.**
[35] **Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.**
[74] **Mendil, D., Uluozlu, O. D., Hasdemir, E., Tuzen, M., Sari, H., Suiçmez, M., *Food Chem.* 90 (2005) 175 - 179.**
[113] **Tüzen, M., Silici, S., Mendil, D., Soylak, M., *Food Chem.* 103 (2007) 325 - 330.**
[44] **Giacomelli, M. B. O., Lima, M. C., Stupp, V., Carvalho, R. M. J., Silva, J. B. B., Barrera, P. B., *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2151 - 2157.**
[69] **Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.**
[93] **Ribeiro, A. S., Curtius, A. J., Pozebon, D., *Microchem. J.* 64 (2000) 105 - 110.**
[94] **Ribeiro, A. S., Vieira, M. A., Silva, A. F., Borges, D. L. G., Welz, B., Heitmann, U., Curtius, A. J., *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 693 - 698.**
[100] **Saracoglu, S., Saygi, K. O., Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Soylak, M., *Food Chem.* 105 (2007) 280 - 285.**
[102] **Silva, J. B. B., Borges, D. L. G., Veiga, M. A. M. S., Curtius, A. J., Welz, B., *Talanta* 60 (2003) 977 - 982.**
[103] **Silva, R. G. L., Willie, S. N., Sturgeon, R. E., Santelli, R. E., Sella, S. M., *Analyst*, 124 (1999) 1843 -1846.**
[112] **Tüzen, M., *Food Chem.* 80 (2003) 119 - 123.**
[7] **Barbosa, F. J., Palmer, C. D., Krug, F. J., Parsons, P. J., *J . Anal . At . Spectrom*. 19 (2004) 1000 - 1005.**
[88] **Ortiz, A. I. C., Albarrán, Y. M., Rica, C. C., *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 1595 - 1601.**
[89] **Park, C. J., Do, H., *J. Anal. At. Spectrom*. 23 (2008) 997 - 1002.**
[107] **Tao, G., Scott N. W., Sturgeon, R. E., *Analyst* 123 (1998) 1215 - 1218.**
[110] **Torres, D. P., Frescura, V. L. A., Curtius, A. J., *Microchem. J.* 93 (2009) 206 - 210.**
[15] **Boutakhrit, K., Claus, R., Bolle, F., Degroodt, J. M., Goeyens, L., *Talanta* 66 (2005) 1042 - 1047.**
[32] **Coni, E., Bocca, A., Coppolelli, P., Caroli, S., Cavallucci, C., Marinucci, M. T., *Food Chem.* 57 (1996) 253 - 260.**
[78] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Anal. Chim. Acta* 565 (2006) 81 - 88.**
[79] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Talanta* 71 (2007) 443 - 451.**

ICP-MS.[8,11,12,41,81,91,93,94,122] As técnicas F AAS e GF AAS podem ser empregadas para a determinação de mais de 50 elementos. Apesar da F AAS ser aplicável a praticamente todos os elementos que a GF AAS[120], a faixa de trabalho normalmente está em níveis de concentração da ordem de mg L^{-1}, o que torna difícil sua aplicação para a determinação de contaminantes em alimentos.

A Tabela 3 mostra um resumo das principais características de cada técnica (adaptada de Barin, 2007).[8]

Tabela 3. Comparação simplificada das características de ICP-MS, ICP OES e GF AAS

	ICP-MS	**ICP OES**	**GF AAS**
Limite de detecção	excelente para muitos elementos	muito bom para muitos elementos	excelente para alguns elementos
Elementos determináveis	> 75	> 75	> 50
Capacidade de processamento	< 10 min por amostra para vários elementos	< 10 min por amostra para vários elementos	3 a 4 min por elemento/amostra
Faixa de trabalho	ng L^{-1} a µg L^{-1}	µg L^{-1} a mg L^{-1}	µg L^{-1}
Precisão	< 5%	< 5%	< 5%
Grau de interferências	Alta	média	baixa
Sólidos dissolvidos	0,1 a 0,4%	até 25%	> 20%
Desenvolvimento de procedimentos	requer treinamento	requer treinamento	requer treinamento
Automação	Disponível	disponível	disponível
Custo de operação	Alto	alto	médio
Custo de aquisição	muito alto	alto	médio/alto

---

[8] **Barin, J. S., Desenvolvimento de procedimentos alternativos de preparo e de determinação de metais pesados em fármacos tricíclicos, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFSM, Santa Maria - RS, 2007.**
[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.**
[12] **Batista, B. L., Rodrigues, J. L., Nunes, J. A., Tormen, L., Curtius, A. J., Barbosa, F. J., *Talanta* 76 (2008) 575 - 579.**
[41] **Fecher, P. A., Goldmann, I., Nagengast, A., *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 977 - 982.**
[81] **Nóbrega, J. A., Gélinas, Y., Krushevska, A., Barnes, R. M., *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 1239 - 1242.**
[91] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *Talanta 51* (2000) 903 - 911.**
[93] **Ribeiro, A. S., Curtius, A. J., Pozebon, D., *Microchem. J.* 64 (2000) 105 - 110.**
[94] **Ribeiro, A. S., Vieira, M. A., Silva, A. F., Borges, D. L. G., Welz, B., Heitmann, U., Curtius, A. J., *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 693 - 698.**
[122] **Willie, S. N., D. Gregoire, C., Sturgeon, R. E., *Analyst* 122 (1997) 751 - 754.**
[120] **Welz, B., Sperling, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3ª Ed., Alemanha, 1999.**

2.3.1.1. GF AAS

A GF AAS é uma técnica considerada confiável para determinação de elementos em baixas concentrações, o que permite seu emprego para análise de diferentes tipos de amostras e com variada faixa de concentração de elementos. O seu uso é indicado quando se tem limitada quantidade de amostra disponível ou o analito está presente em baixas concentrações (nível de μg L^{-1}).[106,120]

Um programa de aquecimento apropriado deve ser estabelecido para a seleção das condições de temperatura e tempo do programa de aquecimento. Desta forma, é possível eliminar os constituintes da matriz a fim de reduzir eventuais interferências e evitar perda dos analitos anteriormente à etapa de atomização.[2,120]

As interferências em GF AAS, como interferência espectral, podem ser eliminadas com o uso de corretor de fundo. Já interferências não espectrais, que ocorrem devido ao efeito memória, perdas de analitos por volatilidade e associações de analitos com a matriz, podem ser corrigidas, dependendo do caso, usando fornos transversais, modificadores químicos, plataforma de L'vov e aumento na taxa de aquecimento do tubo de grafite durante a etapa de atomização.[120]

Modificadores químicos podem ser adicionados à amostra e padrões com o objetivo de diminuir algumas interferências. Dentre os principais destacam-se os grupos IV a VI da tabela periódica, grupo da platina e compostos orgânicos. O modificador é adicionado à amostra antes do aquecimento para tornar a matriz da amostra mais volátil, ou o analito menos volátil, reduzindo, portanto, as perdas de analito durante o processo de queima. Os efeitos são estabilização térmica de analitos voláteis, isomorfismo, aumento da volatilidade do analito durante a atomização, aumento da volatilidade de concomitantes interferentes, transformação química de certos interferentes e estabilização térmica de interferentes.[111]

---

[106] **Sturgeon, R. E. ,*Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1451 - 1457.**
[120] **Welz, B., Sperling, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3ª Ed., Alemanha, 1999.**
[2] **Acar, O., *Talanta* 55 (2001) 613 - 622.**
[111] **Tsalev, D. L., Slaveykova, V. I., Mandjukov P. B., *Spectrochim. Acta Rev.* 13 (1990) 225 - 274.**

2.3.1.2. ICP OES

A ICP OES é uma técnica bem sucedida em função da capacidade de análise multielementar em diversos tipos de amostras.[45] Entre as aplicações desta técnica, encontram-se amostras ambientais, biológicas, geológicas, metalúrgicas, entre outras. A possibilidade de trabalhar com uma ampla faixa linear, tipicamente de seis ordens de magnitude, proporcionam versatilidade e produtividade.[84]

O equipamento é composto basicamente por um sistema de introdução de amostra, um plasma e um espectrômetro de emissão. Para ser introduzida no plasma, a amostra precisa ser convertida em um fino aerossol, produzido pelo nebulizador, o qual está inserido numa câmara de nebulização. Os nebulizadores pneumáticos concêntricos e de fluxo transverso (*cross-flow*) e as câmaras de nebulização ciclônicas e de duplo passo (tipo *Scott*) são as mais usuais. O plasma, formado por íons argônio positivamente carregados, é mantido por um gerador de radiofrequência e possui energia suficiente para atomizar, ionizar e excitar a maioria dos elementos.[45,84]

Interferências espectrais podem ocorrer em ICP-OES devido à emissão de radiação eletromagnética concomitante dos interferentes nas linhas espectrais dos elementos de interesse. Estas interferências podem ser minimizadas pela seleção de diferentes linhas espectrais. Efeitos de matriz, de ácidos e de ionização também são observados. Ajustes de matriz, diluição da amostra, calibração por adição de analito, extração ou separação do analito podem ser necessárias para contornar estas interferências.[45,84]

2.3.1.3. ICP-MS

A ICP-MS tem a capacidade de análise multielementar, assim como ICP OES. Entretanto, apresenta como vantagem a possibilidade de determinação de metais em concentrações ainda mais baixas que GF AAS e ICP OES.

---

[45] **Giné-Rosias, M. F., *Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP AES)*, Piracicaba: CENA (1998), 148 p.**

[84] **Nölte, J., *ICP Emission Espectrometry - A pratical guide*. VCH, USA (2003), 267 p.**

A alta temperatura do plasma permite a geração de íons positivamente carregados (M^+), que são separados em um espectrômetro de massa. Os íons M^+ gerados no plasma são amostrados pela interface por diferença de pressão. A partir deste ponto os íons são conduzidos através da lente iônica ao espectrômetro de massa pela aplicação de potenciais cada vez mais negativos. A lente iônica tem por função conduzir os íons provenientes da interface em direção ao separador de massa, bem como equalizar a energia cinética dos íons de razão massa-carga semelhante.[46,55]

As interferências espectrais são representadas pela interferência isobárica, formação de espécies poliatômicas, óxidos refratários e íons de carga dupla. As interferências não-espectrais são devido a efeitos físicos resultantes da característica da amostra.[55]

A formação de espécies poliatômicas no plasma é uma das maiores limitações para a obtenção de baixos limites de detecção para alguns elementos. A utilização da cela dinâmica de reação e cela de colisão possibilita que estas interferências possam ser em grande parte, eliminadas para alguns elementos. Amostras com elevado teor de carbono também podem causar interferências espectrais, como por exemplo, $^{40}Ar^{12}C^+$ em $^{52}Cr^+$. Além disso, o excesso de carbono pode causar deposição na interface do instrumento e alteração na capacidade de ionização do plasma, modificando assim, as condições analíticas e a qualidade dos resultados obtidos. A concentração do ácido empregado também pode interferir na etapa de nebulização ou nas características do plasma. Ajuste de matriz, diluição da amostra, calibração por adição de analito, diluição isotópica, extração ou separação do analito podem ser usados para contornar estas interferências.[46,55]

---

[46] **Giné-Rosias, M. F., *Espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS)*, Piracicaba: CENA (1999), 118 p.**

[55] **Jarvis, K. E., Gray, A. L., Houk, R. S., *Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry*. Blackie, USA, 1992, 380 p.**

2.4. METODOLOGIAS OFICIAIS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM ALIMENTOS

A referência oficial que estabelece métodos para análise de alimentos é a AOAC.[87] Para determinação de metais, é recomendado um método geral para alimentos sem distinção por matriz de alimentos.

A GF AAS é recomendada para a quantificação Cd e Pb e F AAS para a quantificação de Cu, Fe e Zn. O preparo de amostras recomendado é a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas ou por via seca.[87] Adicionalmente, a norma recomenda a determinação de Cd e Pb por voltametria de redissolução anódica e a determinação de As pelo método de azul de metileno.

O método de decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas recomenda, como pré-tratamento da amostra, a homogeneização e secagem a 105 ºC ou liofilização. Na decomposição são utilizados cerca de 200 a 500 mg de amostra seca, 5 mL de HNO_3 e 2 mL de H_2O_2 30%.[87a]

O preparo de amostra por via seca é baseado na calcinação a 450 ºC em forno mufla. O pré-tratamento consiste em homogeneização e pré-secagem de cerca de 10 a 20 g de amostra a 100 ºC em estufa e posterior calcinação em mufla a 450 ºC por 8 horas ou até a obtenção de cinzas claras. Posteriormente, o resíduo é dissolvido com ácido e os analitos determinados por F AAS ou GF AAS.[87b]

O método de voltametria de redissolução anódica é baseado na pré-calcinação da amostra com K_2SO_4 e HNO_3. Cerca de 5 a 10 g de amostra e 5 mL de K_2SO_4 são submetidos a uma pré-secagem a 100 ºC por 2 a 3 h e posterior calcinação a 500 ºC por 4 h ou *overnight*. O resíduo resultante é dissolvido em HNO_3 e aferido a 50 mL com água. Uma alíquota de 5 mL é utilizada para análise na célula eletrolítica, sendo aplicado para a determinação de Cd e Pb.[87c]

---

[87] **Official Methods of Analysis - AOAC International, 18 th, ed. Gaithersburg (2006). a) Official Method 999.10 (9.1.08) p.16; b) Official Method 999.11 (9.1.09), p. 19 e c) Official Method 982.23 (9.01.02) p. 3.**

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são descritos os equipamentos, reagentes e amostras utilizados para o desenvolvimento deste trabalho, bem como os procedimentos empregados para o preparo de amostras e determinação de As, Cd e Pb por GF AAS, ICP OES e ICP-MS.

São apresentados os parâmetros utilizados para os procedimentos de solubilização alcalina, decomposição por via seca, decomposição por via úmida em sistema aberto e decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas.

3.1. INSTRUMENTAÇÃO

A decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas foi feita em forno micro-ondas (Anton Paar, modelo Multiwave 3000, Áustria) equipado com 8 frascos de quartzo com volume interno de 80 mL. As condições máximas de temperatura, pressão e potência de operação são, respectivamente, 280 ºC, 80 bar e 1400 W.

A decomposição por via úmida em sistema aberto foi realizada em bloco de aquecimento (Velp Scientífica, modelo DK 42, Itália) com capacidade de 42 tubos de vidro de 24 cm comprimento e 26 mm de diâmetro.

A solubilização em meio alcalino foi realizada diretamente em frascos de polipropileno de 15 mL, com auxílio de aquecimento e agitação realizado em banho-maria (Logen Scientific, modelo Dubnoff LS-5400D, Brasil).

A decomposição por via seca foi feita em forno mufla (Jung, modelo J200, Brasil). Os procedimentos de secagem foram feitos em estufa com circulação de ar (Nova Técnica, modelo 400/2ND, Brasil) e a dissolução de resíduo mineral em chapa de aquecimento (Marconi, modelo MA239, Brasil).

A determinação de lipídeos foi feita em extrator de lipídeos (Velp Scientífica, modelo SER 148/6). A determinação de proteína foi feita com o auxílio de digestor (Velp Scientífica, modelo DK 20) e destilador de proteína (Velp Scientífica, modelo UDK 132).

As pesagens de reagentes e amostras foram feitas em balança analítica (Shimadzu, modelo AY220, Filipinas) com resolução de 0,0001 g. O ambiente de trabalho envolvendo as etapas de preparo de amostras e de determinação foi equipado com sistema de ar filtrado para diminuir o risco de contaminação.

A determinação por GF AAS foi feita empregando um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (Analytik Jena, modelo ZEEnit 60, Alemanha) equipado com sistema de correção de fundo baseado no efeito Zeeman, aquecimento transversal e acessório para introdução de amostras através de amostrador automático (modelo MPE 60). Foram empregados tubos de grafite pirolítico com plataforma integrada para introdução de líquidos.

As determinações por ICP OES foram feitas em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Perkin Elmer, modelo Optima 4300 DV, EUA), equipado com nebulizador do tipo *GemCone* e câmara de nebulização ciclônica. As determinações por ICP-MS foram feitas em espectrômetro (PerkinElmer SCIEX, modelo ELAN DRC II, Canadá) com nebulizador concêntrico (Meinhard Associates, EUA) e câmara de nebulização ciclônica.

A determinação de carbono foi feita em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com vista axial (Spectro Analytical Instruments, modelo Ciros CCD, Alemanha) equipado com nebulizador de fluxo cruzado (*cross flow*) e câmara de nebulização de duplo passo (tipo *Scott*). O plasma foi gerado a partir de argônio (99,998% de pureza, White Martins, Brasil).

3.2. REAGENTES

A água utilizada foi previamente destilada, desionizada em uma coluna de troca iônica e posteriormente purificada em um sistema Milli-Q (Millipore, EUA) com resistividade mínima de 18,2 MΩ cm. O ácido nítrico concentrado (65%, Merck, Alemanha) e HCl (37%, Merck) foram purificados usando um sistema *sub-boiling* (Milestone, modelo duoPUR 2.01E, Itália). O peróxido de hidrogênio foi utilizado na concentração de 30% (P.a., Belga, Brasil) e a solução de hidróxido de tetrametilamônio na concentração de 25% (m/v) em água (Sigma-Aldrich, EUA).

As soluções de referência aquosas empregadas foram feitas a partir da diluição de solução estoque de 10 mg L^{-1} (Science PlasmaCAL SCP33MS 140-130-325, Canadá). As soluções de Pd 0,2 e 1 g L^{-1} empregadas como modificador químico foram preparadas a partir da solução estoque de $10,0 \pm 0,2$ g L^{-1} de Pd em HNO_3 15% (Merck). A solução de fosfato de amônio 15 g L^{-1} foi preparada a partir de $(NH_4)H_2PO_4$ (P.a, Merck) e a solução 0,6 g L^{-1} de Mg foi preparada a partir de $Mg(NO_3)_2.6H_2O$ (P.a, Merck).

3.3. AMOSTRAS

As amostras de carne (aves, bovina, equina e suína), fígado (suíno), rim (suíno) e produtos cárneos (linguiça, presunto e salsicha) foram adquiridas no comércio local de Lajeado - RS. As amostras de rim bovino foram doadas pelo Laboratório LANAGRO - RS.

3.3.1. Preparo das amostras

As amostras *in natura* foram lavadas com água, cortadas com faca de aço inoxidável e cominuidas usando um liquidificador doméstico (Arno, modelo Chrome) descontaminado com HNO_3 1,4 mol L^{-1}.[33,95] Após a cominuição as amostras foram acondicionadas em recipientes de poliestireno e congeladas a - 10 ºC.

A secagem das amostras foi feita em liofilizador (Terroni, modelo LH2000/3, Brasil) e a subsequente cominuição em moinho criogênico (Spex, modelo 6750 Freezer/Mill, EUA).

3.4. MATERIAIS DIVERSOS

A vidraria utilizada e outros materiais comuns de laboratório foram descontaminados por imersão em solução de HNO_3 1,4 mol L^{-1} por 24 h e posteriormente lavados com água.

Os planejamentos fatoriais e gráficos de superfície de resposta foram feitos no s*oftware* Statistica 7.0 (Statsoft, EUA). A comparação de resultados obtidos pelas diferentes técnicas avaliadas, foram feitos utilizando o *software* GraphPad Software, Inc. (*InStat* 2.1), aplicando o teste de múltiplas comparações de Tukey-Kramer.

---

[33] **Damin, I. C. F., Investigação da amostragem direta para determinação de elementos traço em carne in natura e em petróleo usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFRGS, Porto Alegre - RS, 2009.**

[95] **Ridgway K., Lalljie S. P. D., Smith R. M., *J. Chromatogr. A* 1153 (2007) 36 - 53.**

3.5. PROCEDIMENTO DE PREPARO DE AMOSTRAS

3.5.1. Decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas

O procedimento de decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas foi realizado de acordo com o método AOAC 999.11.[87a] Amostras de carne e rim foram decompostas em forno de micro-ondas para a posterior determinação de As, Cd e Pb por GF AAS, ICP OES e ICP-MS. Cerca de exatamente 400 mg de amostra *in natura* foram transferidos para frascos de quartzo do forno de micro-ondas. Após, foram adicionados 5 mL de HNO_3 65% (m/m) e 2 mL de H_2O_2 30% (m/m) nos frascos e a mistura permaneceu em repouso por 2 h. Após esta etapa, os frascos foram fechados e submetidos ao programa de aquecimento mostrado na Tabela 4. A temperatura e pressão máxima foram de 280 ºC e 80 bar, respectivamente.

Tabela 4. Programa de aquecimento utilizado para a decomposição de amostras por via úmida em sistema fechado assistida por micro-ondas.

Etapa	Potência, W	Tempo de permanência, min
1	250	3
2	630	5
3	500	22
4*	0	15

*Resfriamento.

Após o resfriamento, a solução obtida foi transferida para um frasco de polipropileno com capacidade para 50 mL e o volume aferido a 30 mL com água. Os brancos e materiais de referência certificados (CRM) foram preparados de maneira idêntica às amostras.

[87] **Official Methods of Analysis - AOAC International, 18 th, ed. Gaithersburg (2006). a) Official Method 999.10 (9.1.08) p.16; b) Official Method 999.11 (9.1.09), p. 19 e c) Official Method 982.23 (9.01.02) p. 3.**

3.5.2. Decomposição em sistema aberto em forno tipo mufla

O procedimento de decomposição por via seca foi realizado de acordo com o método AOAC 999.11.[87b] Cerca de 10 a 20 g de amostra *in natura* foram pesadas em cadinhos de platina ou porcelana e secos em estufa em temperatura de 100 ºC. A amostra previamente seca foi transferida para o forno tipo mufla, aplicando um programa de aquecimento com aumento gradual de temperatura (50 ºC/h) até 450 ± 25 ºC no qual permaneceu até a completa carbonização, indicado pela obtenção de cinzas claras. Após o resfriamento foram adicionados 5 mL de HCl 6 mol L^{-1} e a solução evaporada até a secura em chapa de aquecimento. Então, foram adicionados 30 mL de HNO_3 0,1 mol L^{-1} para dissolução do resíduo mineral. Os cadinhos foram cobertos com vidro relógio e deixados em repouso por 2 h, de modo que todo o resíduo entrasse em contato com o ácido. A solução obtida foi transferida para frasco de polipropileno de 50 mL e o volume aferido a 30 mL com HNO_3 0,1 mol L^{-1}.

3.5.3. Decomposição por via úmida em sistema aberto em bloco digestor

A decomposição em sistema aberto foi realizada em bloco digestor. A massa de amostra foi avaliada na faixa de 0,3 a 5 g de amostra *in natura*. O volume de HNO_3 (5 e 10 mL), temperatura (120, 130, 140, 150, 180 e 200 ºC) e o tempo de aquecimento (1 e 2 h) foram avaliados. O efeito do H_2O_2 como agente oxidante também foi avaliada. Nesta condição, após o arrefecimento da solução digerida com HNO_3, foi adicionado 1 mL de H_2O_2 mantendo o aquecimento por mais 1 h. Durante toda a decomposição os tubos foram parcialmente tampados com materias de vidro desenvolvidos no Laboratório de Hialotecnia da UFSM. Após resfriamento a solução foi transferida para um frasco de polipropileno de 50 mL e o volume aferido a 30 mL com água.

[87] **Official Methods of Analysis - AOAC International, 18 th, ed. Gaithersburg (2006). a) Official Method 999.10 (9.1.08) p.16; b) Official Method 999.11 (9.1.09), p. 19 e c) Official Method 982.23 (9.01.02) p. 3.**

3.5.4. Solubilização com TMAH

A solubilização em meio alcalino foi realizada com TMAH 25% (m/v) em água. As amostras *in natura* foram pesadas diretamente em frascos de polipropileno de 15 mL. A massa de amostra (100 a 500 mg) e o volume de TMAH (100 a 500 µL) foram avaliados. Estes parâmetros foram otimizados de modo a obter uma condição de compromisso entre eficiência de solubilização, limite de detecção (LD) e a técnica de quantificação a ser aplicada.

As condições de solubilização como temperatura e tempo também foram avaliadas. O aquecimento entre 50 a 90 ºC foi utilizado para acelerar a etapa de solubilização. A agitação foi fixada em 150 rpm e teve a finalidade de promover melhor solubilização propiciada pelo maior contato da amostra com a solução de solubilização. Os procedimentos de aquecimento e agitação foram realizados em banho tipo Dubnoff, conforme mostrado na Figura 2. Posteriormente, o volume foi aferido a 10 mL com água.

O conjunto de experimentos desenvolvidos no trabalho foi estabelecido através da combinação de diferentes variáveis envolvidas no preparo da amostra. Foi realizado um planejamento fatorial linear 2^4 com 1 ponto central, envolvendo as variáveis massa de amostra, volume de TMAH, tempo e temperatura.

Figura 2. Equipamento utilizado para aquecimento e agitação na solubilização com TMAH.

Na Figura 3 é mostrado um fluxograma simplificado com procedimentos de preparo de amostras e técnicas de quantificação recomendados pela AOAC (via

seca e via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas) e propostos neste trabalho (decomposição por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH).
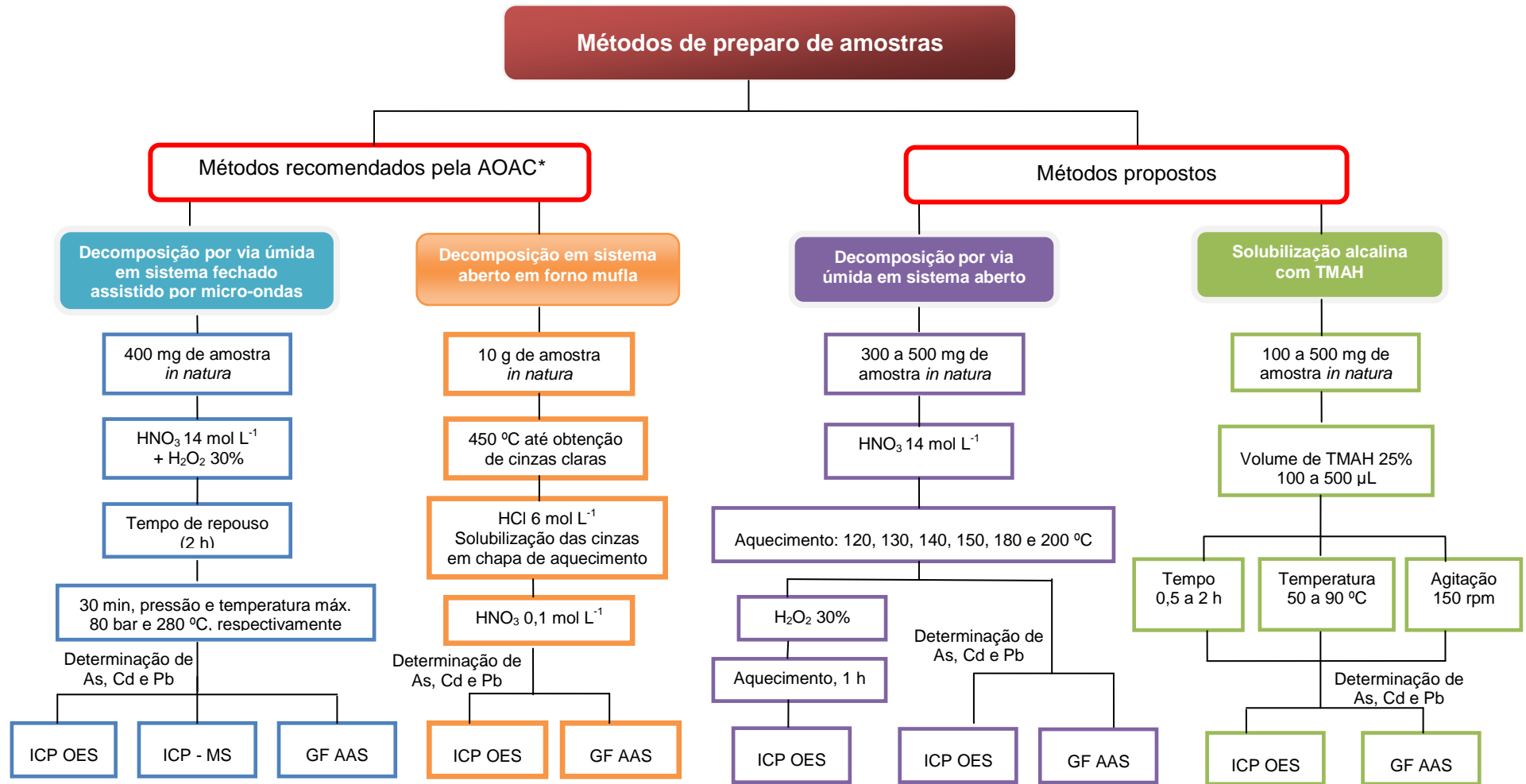
Figura 3. Fluxograma dos métodos de preparo de amostra e quantificação investigados.

* Recomendado pela AOAC para determinação de Cd e Pb por GF AAS.

3.6. DETERMINAÇÃO DE As, Cd E Pb POR GF AAS

Os tubos de grafite foram inicialmente condicionados termicamente usando um programa próprio de formatação do equipamento.

As curvas de pirólise e atomização foram obtidas, investigando a necessidade de uso de modificador químico. Em todas as determinações foram empregados 20 µL de amostra. Os modificadores foram empregados nas seguintes condições: 1[90] e 10 µg[34,69] de Pd para os elementos As, Cd e Pb; 45 µg de $(NH_4)H_2PO_4$[103] e a mistura 10 µg Pd + 6 µg Mg[33] para o elemento Cd.

Para a determinação de As, Cd e Pb foram utilizadas as condições recomendadas pelo fabricante com relação à corrente da lâmpada de cátodo oco e fenda espectral. Os programas de temperatura foram otimizados através da construção de curvas de pirólise e atomização. Os parâmetros operacionais e programa de aquecimento estão mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros operacionais e de aquecimento usados para a determinação de As, Cd e Pb por GF AAS.

Parâmetros	Elementos		
	As	Cd	Pb
Comprimento de onda (nm)	193,7	228,8	283,3
Fenda espectral (nm)	0,8	1,2	0,8
Corrente aplicada à lâmpada de cátodo oco (mA)	5,5	3,0	4,0
Secagem (º C)	130	130	130
Rampa (º C s^{-1})	5	5	5
Tempo de permanência (s)	60	45	45
Pirólise (º C)	1000 - 1500	400 - 900	400 - 800
Rampa (º C s^{-1})	50	50	50
Tempo de permanência (s)	60	60	60
Atomização (ºC)	1900 - 2500	900 - 1600	1300 - 2100
Rampa (ºC s^{-1})	FP[a]	FP[a]	FP[a]
Tempo de permanência (s)	5	20	10

Etapa de limpeza para todos os elementos: 2500 ºC, rampa 2000 ºC s^{-1}, tempo 4 s.
Gás de purga: 2 L min^{-1} em todas as etapas, exceto na atomização, quando o gás é interrompido.
[a] FP = Potência máxima

[90] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 1101 - 1105.**
[34] **Damin, I. C. F., Silva, M. M., Vale, M. G. R., Welz, B., *Spectrochim. Acta Part B* 62 (2007) 1037 - 1045.**
[69] **Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.**
[103] **Silva, R. G. L., Willie, S. N., Sturgeon, R. E., Santelli, R. E., Sella, S. M., *Analyst*, 124 (1999) 1843 -1846.**
[33] **Damin, I. C. F., Investigação da amostragem direta para determinação de elementos traço em carne in natura e em petróleo usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFRGS, Porto Alegre - RS, 2009.**

3.7. DETEMINAÇÃO DE As, Cd E Pb POR ICP OES E ICP-MS

A determinação por ICP OES foi feita nas amostras tratadas com TMAH, decomposição por via úmida em sistema aberto, por via úmida em sistema fechado e por via seca. A determinação por ICP-MS foi feita somente nas amostras decompostas por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas.

Todas as medições por ICP OES foram feitas em vista axial do plasma. As condições de operação dos equipamentos utilizados são mostradas na Tabela 6.

Tabela 6. Condições operacionais do ICP OES e ICP-MS.

Parâmetros	ICP OES*	ICP-MS**
Potência do gerador de radiofrequência, W	1400	1300
Vazão de argônio principal, L min^{-1}	15	15
Vazão de nebulização, L min^{-1}	0,60	1,09
Vazão de argônio auxiliar, L min^{-1}	0,2	1,2
Comprimento de onda As, nm*	188,979 (I)	-
Razão massa/carga As, m/z**	-	75
Comprimento de onda Cd, nm*	228,802 (I); 214,440 (I)	-
Razão massa/carga Cd, m/z**	-	111; 114
Comprimento de onda Pb, nm	217,000 (I)	-
Razão massa/carga Pb, m/z**	-	206; 207; 208

3.8. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CARBONO RESIDUAL

A determinação do teor de carbono residual (RCC) nas amostras digeridas por via úmida em sistema aberto foi adaptada do procedimento descrito por Flores *et al*.[42] As determinações foram conduzidas por ICP OES (Spectro Ciros CCD). Os comprimentos de onda de emissão utilizados para a determinação de carbono foram 193,091 e 247,856 nm. Foi utilizado ítrio como padrão interno, a uma concentração final de 1 mg L^{-1}, sendo monitorado em 371,030 nm. As soluções de calibração e as amostras foram preparadas da mesma maneira.

[42] **Flores, E. M. M., Mesko, M. F., Moraes, D. P., Pereira, J. S. F., Mello, P. A., Barin, J. S., Knapp, G., *Anal. Chem* 80 (2008) 1865 - 1870.**

Para a determinação de RCC foi necessária a remoção de carbono dissolvido na forma de CO_2. Amostras e soluções de calibração foram purgados com argônio por 2 minutos antes das determinações. Este tempo foi otimizado através do monitoramento do teor de carbono após diferentes períodos de purga. A remoção do carbono dissolvido foi considerada efetiva a partir da condição em que não foi mais observada variação do teor de carbono.

3.9. DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ

A determinação da acidez nas amostras decompostas em meio ácido foi adaptada do procedimento descrito por Wasilewska *et al*.[119] Foi realizada titulação ácido-base com solução padronizada de NaOH 0,1 mol L^{-1}.

3.10. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A determinação de gordura, proteína, umidade e matéria mineral foram realizadas de acordo com métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes, do MAPA oficializados através da Instrução Normativa nº 20, de 1999.[18]

A determinação de gordura nas soluções obtidas após procedimento de decomposição em sistema aberto foi realizada conforme *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.[105]

3.11. AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO PARA OS PROCEDIMENTOS PROPOSTOS

A exatidão dos procedimentos propostos foi avaliada através da análise de CRMs com características semelhantes às amostras. Foram utilizados os CRMs de

---

[119] **Wasilewska, M., Goessler, W., Zischka, M., Maichin B., Knapp G., *J. Anal. At. Spectrom*. 17 (2002) 1121 - 1125.**

[18] **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999, *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (1999).**

[105] ***Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*; 21st ed., Method 5520 D (2005) 5 - 40.**

músculo bovino (*Bovine Muscle Powder* 8414), fígado bovino (*Bovine liver* 1577) e fígado de peixe (*Dogfish liver* DOLT-3), adquiridos do *National Research Council of Canada* (Canadá). Os CRMs foram submetidos ao mesmo tratamento das amostras, mantendo-se a mesma proporcão de massa de amostra empregada para as amostras *in natura*.

Os métodos de preparo de amostra e técnicas de determinação também foram avaliados através de testes de recuperação. O teste consistiu na adição de massas conhecidas de As, Cd e Pb às amostras antes dos procedimentos de decomposição ou solubilização para posterior avaliação da recuperação dos mesmos. A massa adicionada foi escolhida considerando as concentrações naturalmente presentes na amostra, do fator de diluição do método de preparo e/ou LD da técnica aplicada.

Além disso, foi feita a determinação de As, Cd e Pb tanto por GF AAS quanto por ICP OES nas amostras de carne e produtos cárneos após tratamento pelos métodos propostos.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados aqui apresentados encontram-se subdivididos em cinco partes. Primeiramente, realizou-se uma avaliação dos métodos recomendados pela AOAC, tais como decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas e decomposição por via seca. Em seguida, serão descritos os procedimentos de otimização da decomposição por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH, além da otimização dos parâmetros operacionais da GF AAS. Posteriormente, realizou-se uma comparação dos resultados obtidos pelos métodos de preparo de amostra avaliados e posterior determinação de As, Cd e Pb por diferentes técnicas (GF AAS, ICP OES e ICP-MS). Por fim, os métodos propostos foram aplicados a diferentes tipos de amostras de carne (aves, bovina e suína), fígado (suíno) e produtos cárneos (linguiça, presunto e salsicha).

4.1. PREPARO DE AMOSTRA

4.1.1. Avaliação dos métodos recomendados pela AOAC

Conforme citado anteriormente (item 2.4), as decomposições por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas e por via seca são recomendadas pela AOAC para posterior determinação de Cd e Pb.[87] Contudo, estes métodos não fazem distinção por matriz de alimentos e se restringem a posterior determinação por GF AAS. Além disso, não há recomendação para a determinação de As. Desta forma, ensaios de recuperação e/ou concordância com CRM foram realizados com o intuito de avaliar a adequabilidade destes métodos de decomposição para posterior determinação de As, Cd e Pb em amostras de carne e produtos cárneos.

4.1.1.1. Decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas

A avaliação da exatidão deste método foi feita através da decomposição de CRMs de músculo bovino (*Bovine muscle* 8414) e fígado bovino (*Bovine Liver* 1577) e posterior determinação de As, Cd e Pb por GF AAS, ICP OES e ICP-MS, conforme mostrado na Tabela 7.

[87] **Official Methods of Analysis - AOAC International, 18th, ed. Gaithersburg (2006). a) Official Method 999.10 (9.1.08) p.16; b) Official Method 999.11 (9.1.09), p. 19 e c) Official Method 982.23 (9.01.02) p. 3.**

Tabela 7. Resultados de As, Cd e Pb em CRM *Bovine muscle* 8414 e *Bovine liver* 1577. Decomposição de 400 mg por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas e determinação por GF AAS, ICP OES e ICP-MS (mg kg^{-1}, $n = 3$).

		CRM 8414 (Músculo bovino)		**CRM 1577 (Fígado bovino)**	
Analitos	**Técnica**	**Valor encontrado**	**Valor certificado**	**Valor encontrado**	**Valor certificado**
As	GF AAS	< 0,50	0,009 ± 0,003	< 0,50	0,055 ± 0,005
	ICP OES	< 1,60	0,009 ± 0,003	< 1,60	0,055 ± 0,005
	ICP-MS	0,010 ± 0,001	0,009 ± 0,003	0,056 ± 0,003	0,055 ± 0,005
Cd	GF AAS	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,011	0,27 ± 0,01	0,27 ± 0,04
	ICP OES	< 0,07	0,013 ± 0,011	0,28 ± 0,01	0,27 ± 0,04
	ICP-MS	0,014 ± 0,002	0,013 ± 0,011	0,29 ± 0,04	0,27 ± 0,04
Pb	GF AAS	0,38 ± 0,01	0,38 ± 0,24	0,33 ± 0,04	0,34 ± 0,08
	ICP OES	< 0,70	0,38 ± 0,24	< 0,70	0,34 ± 0,08
	ICP-MS	0,383 ± 0,005	0,38 ± 0,24	0,34 ± 0,03	0,34 ± 0,08

Os resultados obtidos foram concordantes com os valores certificados. O LD na determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS foi de 0,009; 0,005 e 0,007 mg kg^{-1}, respectivamente. Na determinação de Cd e Pb por GF AAS os LDs foram de 0,004 e 0,08 mg kg^{-1}, respectivamente.

A decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas tem sido amplamente utilizada para decomposição de amostras biológicas,[29,35,47,74] apresentando como principal vantagem a minimização de problemas associados à contaminação ou perdas.[5] Este procedimento de preparo de amostra foi considerado adequado para a posterior determinação de As, Cd e Pb na matriz de carne, no entanto, dependendo do equipamento disponível, pode ser de difícil aplicação em laboratórios de rotina que trabalham com uma grande demanda de amostras. Geralmente os rotores de micro-ondas têm baixa capacidade de processamento, permitindo a decomposição de poucas amostras a cada ciclo.[11] Além disso, são requeridos ciclos de limpeza para descontaminação dos frascos que, em virtude da

[29] **Cid, B. P., Boia, C., Pombo, L., Rebelo, E., *Food Chem.* 75 (2001) 93 - 100.**
[35] **Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.**
[47] **Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nobrega, J. A., Nogueira, A. R. A., *Talanta* 79 (2009) 396 - 401.**
[74] **Mendil, D., Uluozlu, O. D., Hasdemir, E., Tuzen, M., Sari, H., Suiçmez, M., *Food Chem.* 90 (2005) 175 - 179.**
[5] **Arruda, M. A. Z., Santelli, R. E., *Quím. Nova* 20 (1997) 638 - 643.**
[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.**

baixa frequência de análise, tornam o procedimento mais moroso do que outros sistemas convencionais.[5,11]

O equipamento utilizado neste trabalho permitiu o processamento de somente duas amostras (em triplicata) e dois brancos por batelada. Apesar de haver modelos de fornos micro-ondas com maior capacidade, muitos laboratórios não dispõem destes equipamentos. Assim, tendo em vista que para fins de monitoramento de rotina de contaminantes inorgânicos em carnes, outros métodos de preparo de amostras com elevada frequência de análise e baixo custo tornam-se mais adequados.

4.1.1.2. Decomposição por via seca

Apesar do procedimento de decomposição em mufla apresentar boa eficiência de decomposição, este pode estar sujeito a perdas e/ou contaminação por se tratar de um sistema aberto e empregar elevadas temperaturas. A avaliação deste método foi feita através de ensaio de recuperação de analitos adicionados nas amostras e concordância com CRM.

A adição de analito foi realizada através da adição de quantidades conhecidas de As, Cd e Pb à amostra de carne equina *in natura* antes do procedimento de decomposição. A massa adicionada foi escolhida considerando a concentração naturalmente presente na amostra e/ou LD da técnica. As determinações foram feitas por ICP OES.

A Figura 4 mostra o aspecto da decomposição de 10 g de amostra de carne equina submetida à temperatura de 450 ºC por um período de 4, 8, 12 e 16 h de decomposição. O tempo de decomposição varia de acordo com a matriz e a quantidade de amostra, de tal modo que na amostra em questão foram necessárias 16 h de decomposição em mufla para a obtenção de cinzas claras.

---

[5] **Arruda, M. A. Z., Santelli, R. E., *Quím. Nova* 20 (1997) 638 - 643.**
[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.**
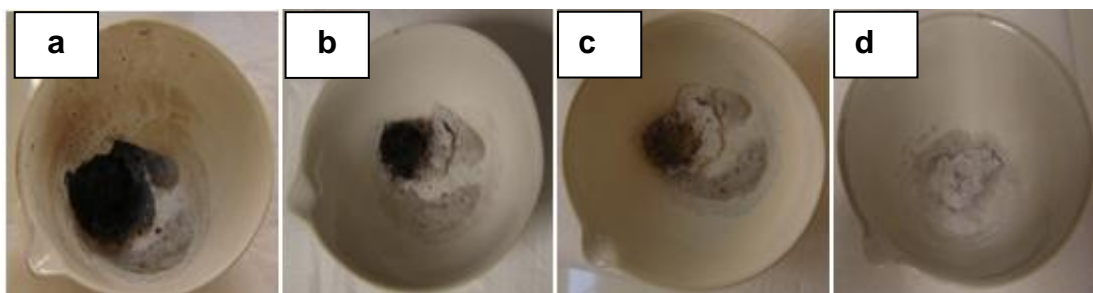
Figura 4. Aspecto das amostras de carne equina (10 g) após decomposição por via seca por a) 4 h; b) 8 h; c) 12 h e d) 16 h de calcinação em mufla.

A avaliação da exatidão dos métodos de decomposição por via seca também foi feita através de CRM. Cerca de 100 mg de CRM de fígado de peixe (*Dogfish liver* DOLT-3) foram submetidos à temperatura de 450 ºC por 16 h. Este CRM foi escolhido por ser uma matriz semelhante à amostra em estudo e apresentar concentrações adequadas de As, Cd e Pb para a determinação por ICP OES. A Tabela 8 mostra os resultados de recuperação e a concordância com CRM.

Tabela 8. Recuperação de As, Cd e Pb adicionados em amostra de carne equina e concordância com CRM DOLT-3. Determinação por ICP OES (n = 3).

	Adição de analito			**CRM DOLT-3**		
	Massa adicionada, (µg)	Massa recuperada, (µg)	Recuperação (%)	Valor encontrado (mg kg^{-1})	Valor certificado (mg kg^{-1})	Concordância (%)
As	1,58	0,24	15	1,59 ± 1,08	10,2 ± 0,5	16
Cd	1,35	1,37	102	18,6 ± 0,7	19,4 ± 0,6	96
Pb	0,83	0,87	105	0,33 ± 0,07	0,32 ± 0,05	103

Conforme pode ser observado na Tabela 8, a recuperação dos analitos e a concordância com CRM foi quantitativa para Cd e Pb. Entretanto, observaram-se perdas de As na amostra com adição de analito e no CRM. Perdas de As em decomposição por via seca também foram observadas por Vassileva *et al*.[116] e Barin[8] para amostras ambientais e de fármacos, respectivamente. Desta forma, este método de preparo de amostra pode ser considerado inadequado para posterior determinação de As. Além disso, outras desvantagens do método foram a

[116] **Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Hoenig, M., *Talanta* 54 (2001) 187 - 196.**

[8] **Barin, J. S., Desenvolvimento de procedimentos alternativos de preparo e de determinação de metais pesados em fármacos tricíclicos, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFSM, Santa Maria - RS, 2007.**

morosidade e a contaminação indicada por brancos relativamente altos para alguns elementos.

4.1.2. Métodos de preparo de amostra propostos

Uma vez que os métodos recomendados pela AOAC apresentaram algumas restrições ou dificuldades, métodos alternativos foram propostos visando métodos adequados de preparo de amostra para posterior determinação de As, Cd e Pb em carne. A seguir, procedimentos de preparo de amostra, tais como decomposição por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH serão discutidos.

4.1.2.1. Decomposição por via úmida em sistema aberto

A decomposição por via úmida em sistema aberto foi proposta devido à sua facilidade de implementação, baixo custo e flexibilidade em relação às condições de decomposição. Utilizou-se amostra de carne equina, pois geralmente apresentam teores maiores de elementos traços do que outras carnes, já que estes animais normalmente são abatidos mais velhos.[118] A decomposição foi feita em bloco digestor e foram otimizados parâmetros como volume de ácido, massa de amostra, temperatura, tempo e efeito do uso de H_2O_2 como oxidante auxiliar. Todas as determinações foram feitas por ICP OES.

4.1.2.1.1. Volume de ácido nítrico

As condições de decomposição foram adaptadas do procedimento descrito por Roduskin *et al*.[98] empregando 1 g de amostra, temperatura de 120 ºC e tempo de 2 h. Foi realizada a comparação da decomposição com 5 e 10 mL de HNO_3. As amostras decompostas com 5 mL apresentaram coloração fortemente amarelada, turbidez e gordura em suspensão. Estas características não foram observadas para as amostras decompostas com 10 mL, desta forma, este volume de ácido foi selecionado e utilizado nos experimentos posteriores.

---

[118] **Waegeneers, N., Pizzolon, J. C., Hoenig, M., Temmerman, L. D., *Food Addit. Contam. Part A* 26 (2009) 1239 - 1248.**
[98] **Rodushkin, I., Ruth, T., Huhtasaari, A., *Anal. Chim. Acta* 378 (1999) 191 - 200.**

4.1.2.1.2. Massa de amostra

A massa de amostra foi avaliada através da decomposição de 1, 2, 3, 4 e 5 g de amostra *in natura*, com 10 mL de HNO_3 a 120 ºC por 2 h.

Nas amostras decompostas observou-se maior intensidade de coloração à medida que aumentava a massa de amostra. As soluções oriundas da decomposição de 4 e 5 g de amostra apresentaram turbidez, elevado teor de sólidos dissolvidos e significativo teor de gordura em suspensão. Também houve dificuldade na análise por ICP OES das soluções obtidas pela decomposição de 3 g de amostra, havendo extinção do plasma durante as medidas, provavelmente devido à alta quantidade de carbono presente. Assim, foi escolhida a condição de 2 g de amostra como sendo a massa máxima de amostra *in natura* a ser empregada.

4.1.2.1.3. Efeito do peróxido de hidrogênio

Em vista da intensa coloração observada na decomposição com HNO_3, o efeito do H_2O_2 em combinação com este ácido foi investigado. O H_2O_2 é comumente empregado em procedimentos de decomposição[25,72,92] e tem a finalidade de auxiliar na oxidação da matéria orgânica, aumentando o poder oxidante do ácido, promovendo a remoção da coloração da solução.[79] Para este estudo foram selecionadas amostras de carne e produtos cárneos com diferente composição centesimal (Tabela 9), para posterior avaliação da eficiência do H_2O_2 em relação a redução do teor de RCC[92] e decomposição da gordura.

Tabela 9. Composição centesimal das amostras decompostas com HNO_3 e HNO_3 + H_2O_2, (*n* = 3).

Parâmetros	Carne equina	Rim suíno	Linguiça
Umidade (%)	76,2 ± 0,1	78,8 ± 0,1	47,7 ± 0,1
Gordura (%)	1,66 ± 0,04	1,11 ± 0,02	29,4 ± 0,1
Proteína (%)	20,1 ± 0,1	16,9 ± 0,2	16,6 ± 0,1
Cinzas (%)	1,06 ± 0,02	1,17 ± 0,02	4,66 ± 0,35

---

[25] **Carrilho, E. N. V. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., Souza, G. B., Cruz, G. M., *Fresenius J. Anal. Chem.* 371 (2001) 536 - 540.**
[72] **Matusiewicz, H., Sturgeon, R. E., Berman, S. S., *J. Anal. At. Spectrom*. 4 (1989) 323 - 327.**
[92] **Reid, H. J., Greenfield, S., Edmonds, T. E., *Analyst,* 120 (1995) 1543 - 1548.**
[79] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Talanta* 71 (2007) 443 - 451.**

A decomposição foi feita empregando cerca de 2 g de amostra com 10 mL de HNO_3, em bloco digestor a 120 ºC por 1 h. O procedimento consistiu em uma etapa adicional onde, após o arrefecimento da solução decomposta com HNO_3, foi adicionado 1 mL de H_2O_2 e aqueceu-se por mais 1 h. Salienta-se que nos dois procedimentos (presença e ausência de H_2O_2), o tempo total de decomposição foi de 2 h.

O efeito do H_2O_2 também foi avaliado em relação à eficiência na remoção da coloração. As amostras decompostas na presença de H_2O_2 apresentaram-se mais límpidas e claras, conforme pode ser visto na Figura 5.
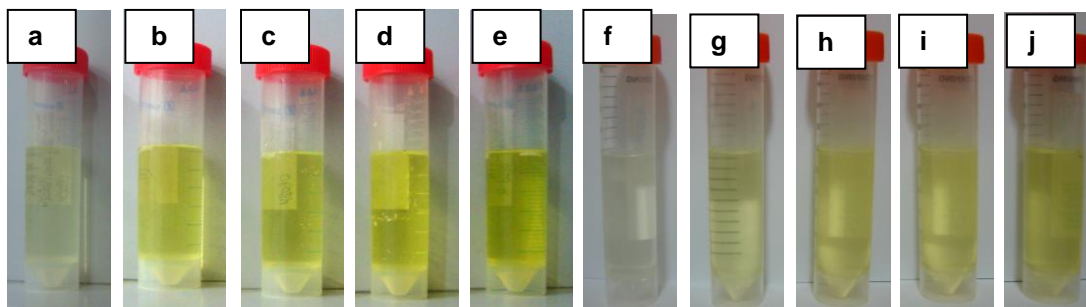
Figura 5. Aspecto das soluções empregando diferentes massas de amostra na decomposição por via úmida em sistema aberto a 120 ºC/2 h com 10 mL de HNO_3 (a, b, c, d, e) e 10 mL de HNO_3 + 1 mL H_2O_2 (f, g, h, i, j). A massa de amostra corresponde a 1 (a, f), 2 (b, g), 3 (c, h), 4 (d, i) e 5 g (e, j).

O teor de RCC é um importante indicativo para avaliar a eficiência de decomposição[49,119]. Este parâmetro será discutido posteriormente (item 4.1.2.1.5), porém, para poder verificar a ação do H_2O_2, na Tabela 10 é mostrada uma comparação do teor de carbono (em solução) nas amostras decompostas na ausência e presença de H_2O_2. Além disso, são mostrados os teores de gordura residual após a digestão.

---

[49] **Gouveia, S. T., Silva, F. V., Costa, L. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., *Anal. Chim. Acta* 445 (2001) 269 - 275.**
[119] **Wasilewska, M., Goessler, W., Zischka, M., Maichin B., Knapp G., *J. Anal. At. Spectrom*. 17 (2002) 1121 - 1125.**

Tabela 10. Teor de carbono e de gordura residual após a digestão com HNO_3 (10 mL) e HNO_3 (10 mL) + H_2O_2 (1 mL). Decomposição de 2 g de amostra por via úmida em sistema aberto a 120 ºC/2 h, (*n* = 3).

	Teor de carbono em solução (g 100 mL^{-1})		**Teor de gordura residual após a digestão (% m/m)**	
Amostras	HNO_3	$HNO_3 + H_2O_2$	HNO_3	$HNO_3 + H_2O_2$
Carne equina	0,25 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01
Rim suíno	0,28 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,20 ± 0,06	0,18 ± 0,03
Linguiça	0,61 ± 0,04	0,57 ± 0,02	8,82 ± 0,60	9,12 ± 0,30

Comparando-se os procedimentos de decomposição mostrados na Tabela 10, verifica-se que na decomposição com $HNO_3 + H_2O_2$ houve decréscimo de carbono, correspondendo a 7, 20 e 21% para a linguiça, carne equina e rim suíno, respectivamente. Desta forma, pode-se evidenciar que a oxidação na presença de H_2O_2 foi mais eficiente devido ao incremento do poder oxidante.[79,92] Já a redução menos expressiva de carbono para a amostra de linguiça, provavelmente está associada ao alto teor de gordura presente nesta amostra.

Nas amostras decompostas também foi avaliado o teor de gordura resídual. Dessa forma, observou-se que o H_2O_2 não foi eficiente na decomposição da gordura, pois não houve diferença significativa entre o teor de gordura nas amostras após decomposição na presença ou ausência de H_2O_2.

Em sistemas abertos, geralmente é difícil efetuar uma decomposição eficiente utilizando somente HNO_3 e, em alguns casos, o potencial de oxidação não é suficiente para a digestão de algumas moléculas orgânicas. Neste caso, grandes quantidades de compostos orgânicos podem permanecer não dissolvidos, especialmente em amostras com alto teor de gordura. Para tanto, altas temperaturas são necessárias para possibilitar maior eficiência na quebra das ligações carbono-carbono das moléculas orgânicas.[62]

---

[79] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Talanta* 71 (2007) 443 - 451.**
[92] **Reid, H. J., Greenfield, S., Edmonds, T. E., *Analyst,* 120 (1995) 1543 - 1548.**
[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**

4.1.2.1.4. Temperatura e tempo de decomposição

O tempo de 1 e 2 h de decomposição foi avaliado quando o HNO_3 foi utilizado. Porém, observou-se evolução de fumos marrons de NO_2 na decomposição em 1 h, indicando que a oxidação da matéria orgânica não foi eficiente.[62] Devido a decomposição incompleta observado com 1 h, os experimentos com H_2O_2 foram realizados somente com 2 h.

A otimização da temperatura foi feita em 120, 130, 140, 150, 180 e 200 ºC. Em sistemas abertos, a temperatura de ebulição do HNO_3 é a de seu azeótopro com a água (120 ºC)[62], entretanto, no presente trabalho o emprego de temperaturas superiores a 120 ºC foi possível devido ao formato dos tubos de decomposição que permitiram a condensação do ácido nas paredes.

Para avaliar a eficiência de decomposição foi realizada a determinação do teor de RCC e acidez nas amostras decompostas, bem como a determinação do teor de As, Cd e Pb. Posteriormente, ainda foram feitos testes de recuperação destes elementos na faixa de temperatura avaliada.

4.1.2.1.5. Teor de carbono residual

Geralmente quando é obtida uma solução clara ou uma total recuperação dos elementos, tem sido assumido que a oxidação da matéria orgânica foi completa.[72] No entanto, informações adicionais como a detecção de material orgânico residual são importantes,[62] principalmente se estes podem interferir na etapa de quantificação.[49,119] O ambiente no qual a amostra decomposta se encontra pode influenciar no sinal analítico seja por efeitos físicos, como mudanças na eficiência da nebulização, ou por processos químicos, como alteração dos mecanismos de excitação no plasma.[49]

---

[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**

[72] **Matusiewicz, H., Sturgeon, R. E., Berman, S. S., *J. Anal. At. Spectrom*. 4 (1989) 323 - 327.**

[49] **Gouveia, S. T., Silva, F. V., Costa, L. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., *Anal. Chim. Acta* 445 (2001) 269 - 275.**

[119] **Wasilewska, M., Goessler, W., Zischka, M., Maichin B., Knapp G., *J. Anal. At. Spectrom*. 17 (2002) 1121 - 1125.**

O teor de RCC nas amostras decompostas foi calculado baseado no teor original de carbono[92] que corresponde a 50% em carnes[23,25,47] e 64% em vísceras.[25,47] Na Tabela 11 é mostrado o teor de RCC em amostra de carne equina decomposta com diferentes condições de massa, temperatura, tempo e presença de H_2O_2. Em algumas condições a decomposição não foi realizada devido à pré-seleção de alguns parâmetros já discutidos anteriormente.

Tabela 11. Teor de RCC na amostra de carne equina decomposta com diferentes condições de temperatura, tempo e presença de H_2O_2 (*n* = 3).

	% RCC						
	1 g amostra		2 g amostra			3 g amostra	
	1 h	2 h	1 h	2 h	2 h	1 h	2 h
	HNO_3	HNO_3	HNO_3	HNO_3	HNO_3 + H_2O_2	HNO_3	HNO_3
120 ºC	60,0 ± 1,6	57,6 ± 5,4	63,5 ± 5,7	60,0 ± 2,7	55,2 ± 1,5	72,0 ± 2,7	56,0 ± 1,5
130 ºC	59,7 ± 1,8	48,2 ± 1,8	58,5 ± 3,7	49,4 ± 3,6	47,0 ± 2,0	68,9 ± 3,3	49,9 ± 4,5
140 ºC	*	*	62,2 ± 0,8	47,2 ± 3,6	45,6 ± 2,4	62,8 ± 3,8	49,8 ± 2,1
150 ºC	*	*	59,5 ± 1,9	45,8 ± 2,7	40,6 ± 2,3	62,6 ± 2,9	50,4 ± 1,5
180 ºC	*	*	48,9 ± 4,2	38,6 ± 4,9	35,8 ± 2,0	*	*
200 ºC	*	*	43,8 ± 5,5	38,2 ± 4,5	32,6 ± 2,1	*	*

*Não determinado.

Analisando a Tabela 11, nota-se que houve uma redução do RCC à medida que aumenta o tempo de decomposição, a temperatura e na presença de H_2O_2. Na decomposição em sistemas fechados, o potencial de oxidação do HNO_3 é proporcional ao acréscimo de temperatura.[59,79,92,119] No entanto, em sistemas abertos o ponto de ebulição do HNO_3 é um fator limitante. Assim, nas condições de temperatura avaliadas (120 a 200 ºC), a amostra e ácido apresentaram uma temperatura de aproximadamente 120 ºC. Em temperaturas externas

---

[92] **Reid, H. J., Greenfield, S., Edmonds, T. E., *Analyst,* 120 (1995) 1543 - 1548.**
[23] **Buldini, P. L., Ricci, L., Sharma, J. L., *J. Chromatogr. A* 975 (2002) 47 - 70.**
[25] **Carrilho, E. N. V. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., Souza, G. B., Cruz, G. M., *Fresenius J. Anal. Chem.* 371 (2001) 536 - 540.**
[47] **Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nobrega, J. A., Nogueira, A. R. A., *Talanta* 79 (2009) 396 - 401.**
[59] **Kingston, H. M., Jassie, L. B., *J. Res. Natl. Bur. Stand.* 93 (1988) 269 - 274**
[79] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Talanta* 71 (2007) 443 - 451.**
[119] **Wasilewska, M., Goessler, W., Zischka, M., Maichin B., Knapp G., *J. Anal. At. Spectrom*. 17 (2002) 1121 - 1125.**

superiores a 120 ºC, a maior temperatura localizada na parede do tubo de digestão e a acentuada fervura durante a decomposição podem ter promovido a eliminação de compostos orgânicos voláteis, acarretando o decréscimo de RCC.

Würfels & Jackwerth[123] ao investigarem a decomposição de amostras biológicas com HNO_3 observaram que a decomposição na maioria dos casos é incompleta. Em sistema aberto, dependendo da natureza da amostra, de 2 a 50% do carbono original pode permanecer como material não decomposto.[62] Segundo Carrilho *et al*.[25], a eficiência da decomposição tem correlação com o tipo de composto presente e com o grau de dificuldade de destruir a matriz.

Geralmente, maiores teores de RCC são obtidos em decomposição por via úmida em sistema aberto se comparados com outros métodos de decomposição, tais como por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas ou por via seca. No presente trabalho, o teor de RCC da decomposição de carne equina por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas e por via seca foram de 10,6% e 0,3%, respectivamente. Segundo Würfels & Jackwerth[123], teores de 25 a 30% de RCC podem ser observados em amostras de carne decompostas por via úmida em sistema aberto. Já em decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas, Carrilho *et al*.[25] obtiveram 8,7% de RCC para decomposição de amostra de vísceras (fígado, rim, coração, pulmão e baço). Para CRMs de carne e vísceras, teores de RCC de 9,8% e 23,0% foram reportados por Gouveia *et al.*[49] e Gonzalez *et al*.[47], respectivamente.

A oxidação incompleta é atribuída à alta estabilidade de alguns compostos orgânicos.[49] Würfels *et al.*[124] e Reid *et al.*[92] identificaram os compostos aromáticos, ácidos carboxílicos, ácidos alifáticos, nitro-compostos, oxalatos, nitratos inorgânicos e fosfatos como sendo os principais produtos de decomposição de materiais biológicos com ácido nítrico.

---

[123] **Würfels, M., Jackwerth E., *Fresenius J. Anal. Chem.* 322 (1985) 354 - 358.**

[62] **Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.**

[25] **Carrilho, E. N. V. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., Souza, G. B., Cruz, G. M., *Fresenius J. Anal. Chem.* 371 (2001) 536 - 540.**

[49] **Gouveia, S. T., Silva, F. V., Costa, L. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., *Anal. Chim. Acta* 445 (2001) 269 - 275.**

[47] **Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nobrega, J. A., Nogueira, A. R. A., *Talanta* 79 (2009) 396 - 401.**

[124] **Würfels, M., Jackwerth E., Stoeppler, M., *Anal. Chim. Acta* 226 (1989) 17 - 30.**

[92] **Reid, H. J., Greenfield, S., Edmonds, T. E., *Analyst,* 120 (1995) 1543 - 1548.**

As condições selecionadas para a decomposição por via úmida em sistema aberto foram de 2 g de amostra, 10 mL de HNO_3 + 1 mL de H_2O_2 em 150 ºC por 2 horas.

4.1.2.1.6. Acidez

A determinação de acidez foi realizada nas soluções obtidas pelas diferentes condições de temperatura. A redução de acidez foi observada somente a partir de 150 ºC, o que pode ser decorrrente do formato dos tubos que pode permitir a condensação do ácido nas suas paredes. Já em 200 ºC a acidez residual foi de cerca de 80%. Os resultados são coerentes com o esperado, pois segundo Wasilewska *et al*.[119], quanto maior a temperatura de decomposição, maior a oxidação da matéria orgânica e menor a concentração de HNO_3 remanescente.

4.1.2.1.7. Teor de As, Cd e Pb em amostra de carne equina e carbono em solução das amostras decompostas em diferentes condições

Nas soluções obtidas pela decomposição de amostra de carne equina em diferentes condições (temperatura, tempo e presença de H_2O_2), conforme descrito anteriormente, foi feita a determinação de As, Cd e Pb (Figura 6). Os teores de As e Pb foram inferiores aos LDs de 0,33 e 0,12 mg kg^{-1}, respectivamente. O LD de Cd foi de 0,013 mg kg^{-1}. Além disso, também são mostrados os teores de carbono em solução (g 100 mL^{-1}), comparando a decomposição com HNO_3/1 h; HNO_3/2 h e HNO_3 + H_2O_2/2 h em diferentes temperaturas.

[119] **Wasilewska, M., Goessler, W., Zischka, M., Maichin B., Knapp G., *J. Anal. At. Spectrom*. 17 (2002) 1121 - 1125.**
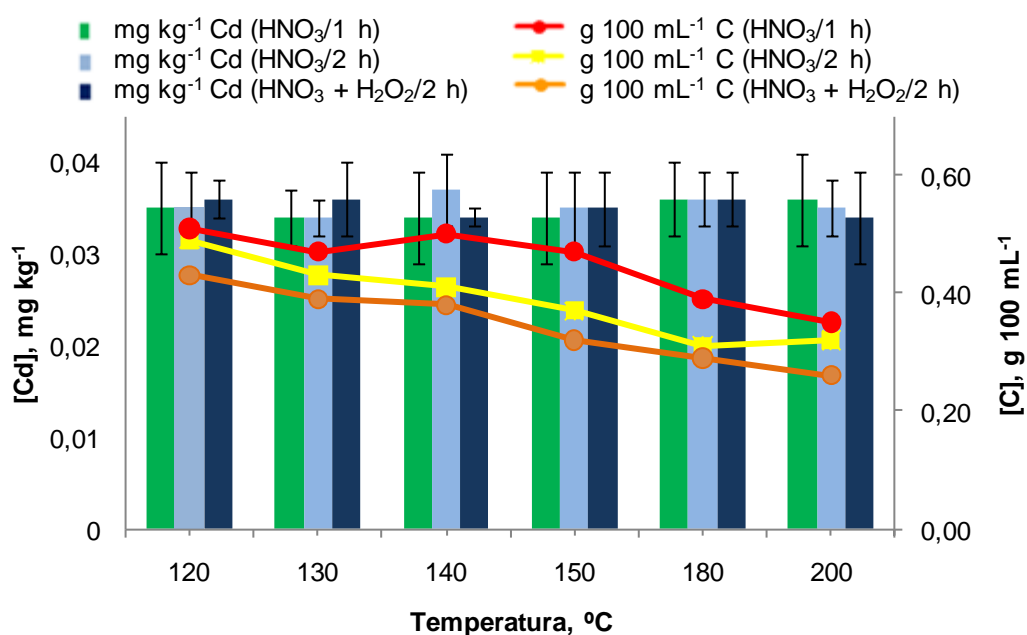
Figura 6. Teores de Cd e C (em solução) em carne equina decomposta por via úmida em sistema aberto em diferentes temperaturas, na ausência e presença de H_2O_2 (*n* = 3).

Conforme pode ser observado, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) do teor de Cd dentre as diferentes condições de decomposição avaliadas. Em relação aos teores de carbono em solução, observou-se que houve declínio do mesmo em função do aumento da temperatura e uso de H_2O_2. Na condição previamente selecionada (150 ºC) as amostras decompostas apresentaram teor de C de 0,32 g por 100 mL de solução.

4.1.2.1.8. Recuperação de As, Cd e Pb (por adição de analito) em diferentes temperaturas de decomposição

O teste de recuperação dos analitos foi realizado através da adição de analito (0,9 µg de As, Cd e Pb na forma inorgânica) na amostra de carne equina (2 g) decomposta com HNO_3 + H_2O_2 em diferentes temperaturas (Figura 7). A quantidade de analito adicionada nas amostras foi equivalente a 0,45 mg kg^{-1} de cada elemento.
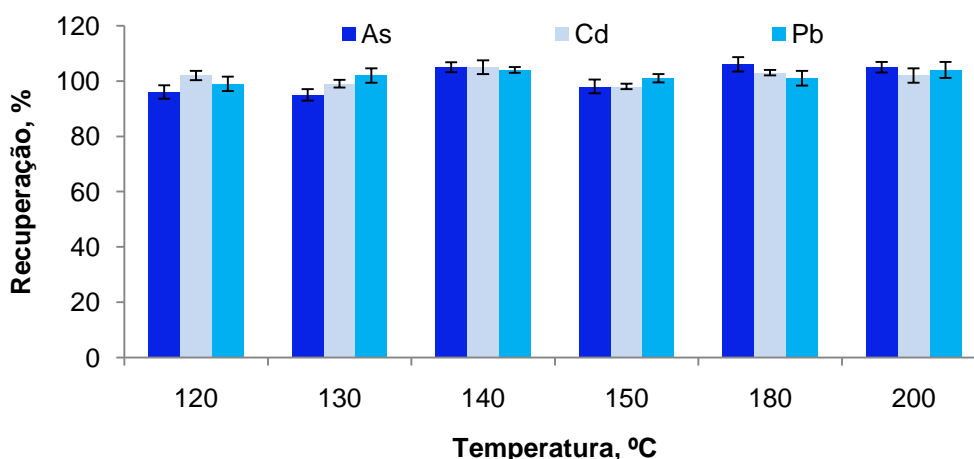
Figura 7. Recuperação de As, Cd e Pb na decomposição por via úmida em sistema aberto empregando diferentes temperaturas. Determinação por ICP OES (*n* = 3).

Conforme pode ser observado na Figura 7, a recuperação foi satisfatória (95 a 106%) para as diferentes condições de temperatura avaliadas.

Apesar da decomposição por via úmida em sistema aberto apresentar menor eficiência de decomposição em relação a outros métodos (via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas ou via seca), este método de preparo de amostra apresentou resultados satisfatórios nos experimentos realizados. Salienta-se ainda que baixos valores de brancos foram obtidos nas decomposições, tanto na ausência quanto presença de H_2O_2. Considerando que a decomposição por via úmida em sistema aberto é mais suscetível à contaminação em relação ao sistema fechado, a contaminação foi minimizada provavelmente pelos sistemas de filtração de ar dos laboratórios e devido ao uso de tampas nos tubos durante a decomposição.

4.1.2.2. Preparo de amostra por solubilização com TMAH

A solubilização com TMAH foi proposta por ser um método considerado simples, de baixo custo, alta capacidade de processamento e reduzidos riscos de contaminação ou perdas. Desta forma, investigou-se a aplicabilidade deste método de preparo através da amostra de rim bovino *in natura*, avaliando diferentes parâmetros como massa de amostra, volume de TMAH, temperatura e tempo.

4.1.2.2.1. Testes preliminares de solubilização com TMAH

A solução de TMAH pode ser utilizada na concentração de 25% (m/v) em água[11,89,91,93] ou metanol.[69,94,103,122] Para definição da solução a ser utilizada, procederam-se alguns testes utilizando arbitrariamente diferentes proporções de massa de amostra e volume de TMAH (Figura 8). Estes testes foram baseados no trabalho de Martins *et al*.[69] que recomendam a solubilização em banho-maria a 60 ºC por 1 h.
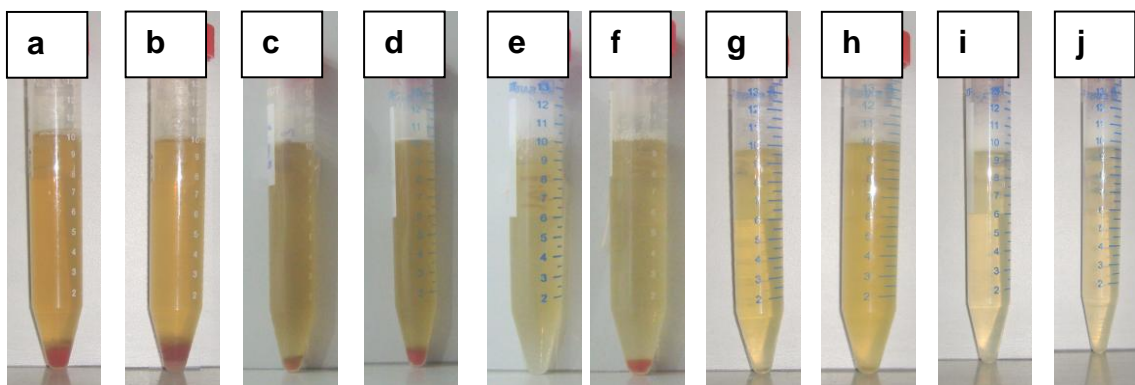
Figura 8. Comparação do tratamento da amostra com TMAH em água ou metanol. A massa de amostra (mg) e volume de TMAH (µL) corresponde a 3 + 1 (a e b); 2 + 1 (c e d); 5 + 3 (e e f); 1 + 2 (g e h); 1 + 5 (i e j), onde a, c, e, g, h, i foram preparados com TMAH em água e b, d, f, h e j com TMAH em metanol, respectivamente.

Segundo Silva *et al.*[103] a solução metanólica de TMAH é considerada apropriada para solubilização de amostras biológicas com alto teor de gordura. Entretanto, nas amostras de carne observou-se que a solução de TMAH em água foi mais eficiente e ainda evitou-se que as medidas por ICP OES fossem prejudicadas devido à introdução de carbono através do metanol. Desta forma, nos ensaios posteriores utilizou-se a solução de TMAH em água.

---

[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.**
[89] **Park, C. J., Do, H., *J. Anal. At. Spectrom*. 23 (2008) 997 - 1002.**
[91] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *Talanta 51* (2000) 903 - 911.**
[93] **Ribeiro, A. S., Curtius, A. J., Pozebon, D., *Microchem. J.* 64 (2000) 105 - 110.**
[69] **Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.**
[94] **Ribeiro, A. S., Vieira, M. A., Silva, A. F., Borges, D. L. G., Welz, B., Heitmann, U., Curtius, A. J., *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 693 - 698.**
[103] **Silva, R. G. L., Willie, S. N., Sturgeon, R. E., Santelli, R. E., Sella, S. M., *Analyst*, 124 (1999) 1843 -1846.**
[122] **Willie, S. N., D. Gregoire, C., Sturgeon, R. E., *Analyst* 122 (1997) 751 - 754.**

Nestes experimentos ainda foi possível observar a partir de qual relação de amostra e volume de TMAH ocorria a solubilização da amostra. Observou-se que nas condições 3 + 1 (500 mg + 150 µL), 2 + 1 (500 mg + 250 µL), 5 + 3 (250 mg + 150 µL) houve solubilização parcial e a partir de 1 + 2 (100 mg + 200 µL) se obteve solubilização total em banho-maria a 60 ºC por 1 h.

4.1.2.2.2. Avaliação da massa de amostra, volume de TMAH, temperatura e tempo

A solubilização foi primeiramente realizada a temperatura ambiente, mas devido a morosidade optou-se por realizar em banho-maria com aquecimento e agitação. A avaliação do conjunto de variáveis que poderiam influenciar na solubilização da amostra foi realizada através de um planejamento fatorial. Foi usado o planejamento do tipo linear 2^4 com um ponto central (0), totalizando 17 ensaios (Tabela 12). Este planejamento contribuiu para a redução do trabalho laboratorial, além de gerar informações relevantes para o mapeamento dos fatores que poderiam afetar o sistema.[79] As variáveis estudadas foram a massa de amostra, volume de TMAH, temperatura e tempo. Já a agitação, foi fixada em 150 rpm.

---

[79] **Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., *Talanta* 71 (2007) 443 - 451.**

Tabela 12. Variáveis e níveis (mínimos e máximos) usados no planejamento fatorial para solubilização de amostras de rim com TMAH.

Condições	Massa de amostra (mg)	Volume de TMAH (µL)	Temperatura (ºC)	Tempo de aquecimento (min)
1	100 (-)	100 (-)	50 (-)	30 (-)
2	500 (+)	100 (-)	50 (-)	30 (-)
3	100 (-)	500 (+)	50 (-)	30 (-)
4	500 (+)	500 (+)	50 (-)	30 (-)
5	100 (-)	100 (-)	90 (+)	30 (-)
6	500 (+)	100 (-)	90 (+)	30 (-)
7	100 (-)	500 (+)	90 (+)	30 (-)
8	500 (+)	500 (+)	90 (+)	30 (-)
9	100 (-)	100 (-)	50 (-)	120 (+)
10	500 (+)	100 (-)	50 (-)	120 (+)
11	100 (-)	500 (+)	50 (-)	120 (+)
12	500 (+)	500 (+)	50 (-)	120 (+)
13	100 (-)	100 (-)	90 (+)	120 (+)
14	500 (+)	100 (-)	90 (+)	120 (+)
15	100 (-)	500 (+)	90 (+)	120 (+)
16	500 (+)	500 (+)	90 (+)	120 (+)
17	300 (0)	300 (0)	70 (0)	75 (0)

A Figura 9 mostra o aspecto de algumas soluções obtidas a partir de diferentes condições de solubilização aplicadas.
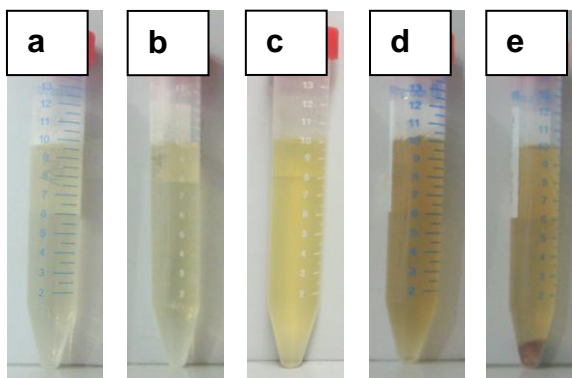
Figura 9. Aspecto das soluções obtidas pela solubilização de diferentes quantidades de amostra e de TMAH. a) 100 mg amostra + 100 µL de TMAH; b) 100 mg amostra + 500 µL de TMAH; c) 300 mg de amostra e 300 µL de TMAH; c) 500 mg amostra + 500 µL de TMAH e d) 500 mg amostra + 100 µL de TMAH. Tratamento a 90 ºC por 120 min (a, b, d, e) e 70 ºC por 75 min (c).

Analisando a Figura 9, pode-se verificar que somente na condição de 500 mg de amostra e 100 µL TMAH não houve solubilização completa da amostra. Este fato se deve à quantidade insuficiente de TMAH que não permitiu que este entrasse em contato com toda porção de amostra.

Na literatura encontram-se trabalhos com diferentes proporções de massa e volume de TMAH. Pozebon *et al*.[90] observaram que 2 µL de TMAH 25% (m/v) para cada mg de amostra foram adequados para solubilização de músculo bovino (CRMs), obtendo uma solução clara e sem partículas em suspensão. Torres *et al*.[110] utilizaram 5 µL de TMAH 25% (m/v) por mg de amostra para rim suíno e fígado de peixe (CRMs). Contudo, no presente trabalho, nas condições estudadas, observou-se que 1 µL de TMAH 25% (m/v) por mg de amostra *in natura* foram suficientes para a completa solubilização.

4.1.2.2.3. Concentração de As, Cd e Pb após tratamento da amostra de acordo com a condições estabelecidas no planejamento fatorial

Nas amostras preparadas de acordo com o planejamento fatorial foi feita a determinação de As, Cd e Pb por ICP OES e GF AAS. Foi possível quantificar Cd, porém o teor de As e Pb foi inferior ao LD. Os resultados foram comparados com com os obtidos pelo método de preparo de amostra recomendado pela AOAC. Assim, na Figura 10 é mostrada a concordância do teor de Cd com o resultado obtido pela decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas e determinação por ICP-MS.

---

[90] **Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 1101 - 1105.**
[110] **Torres, D. P., Frescura, V. L. A., Curtius, A. J., *Microchem. J.* 93 (2009) 206 - 210.**
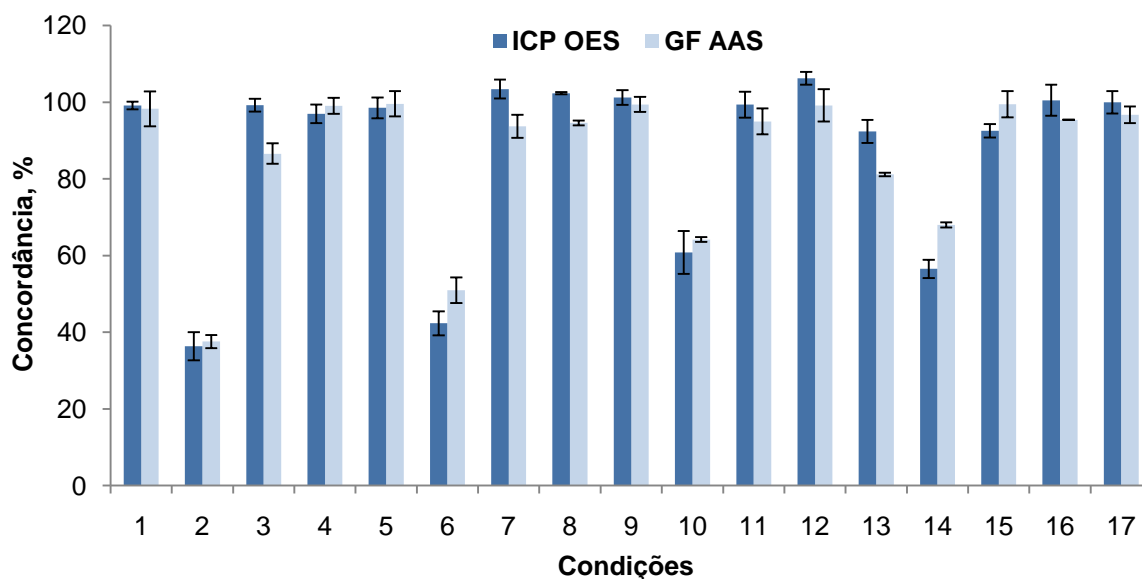
Figura 10. Concordância do teor de Cd nas amostras tratadas de acordo com as condições do planejamento fatorial estabelecidas na Tabela 12 com o resultado obtido pela decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas. Determinação por ICP OES e GF AAS (*n* = 3).

Na Figura 10 pode ser observado que a recuperação foi similar nas determinações por ICP OES e GF AAS, indicando que amostras tratadas com TMAH podem ser quantificadas por ambas as técnicas.

Ao avaliar as diferentes condições, verificou-se que a recuperação de Cd foi insatisfatória para as situações em que se utilizou 500 mg de amostra e 100 µL de TMAH. Contudo, nas demais condições a recuperação foi superior a 92%. Assim, selecionou-se a condição de massa de 500 mg, por apresentar maior representatividade. Além disso, nesta condição obteve-se LDs adequados por ICP OES e GF AAS em relação aos padrões máximos estabelecidos na legislação. As demais condições selecionadas foram 500 µL de TMAH, solubilização em banho-maria a 90 ºC por 120 min, na qual se obteve recuperação de 101%. Porém, em virtude do elevado teor de RCC foi necessário diluir para as determinações por ICP OES.

4.1.2.2.4. Variáveis significativas do planejamento fatorial

Através de um programa computacional estatístico foram calculados os principais efeitos dos fatores e suas interações sobre a variável resposta, bem como os dados relativos à análise de variância (ANOVA). Neste estudo verificou-se que a massa, o volume e o tempo apresentaram efeitos significativos sobre a concentração de Cd. A interação da massa com o volume também teve efeito significativo ($p < 0,05$).

Para ilustrar o sistema, foi utilizada a metodologia de superfície de resposta representada pela Figura 11, na qual é mostrada a concentração de Cd em função da massa de amostra e volume de TMAH, bem como do tempo e volume.
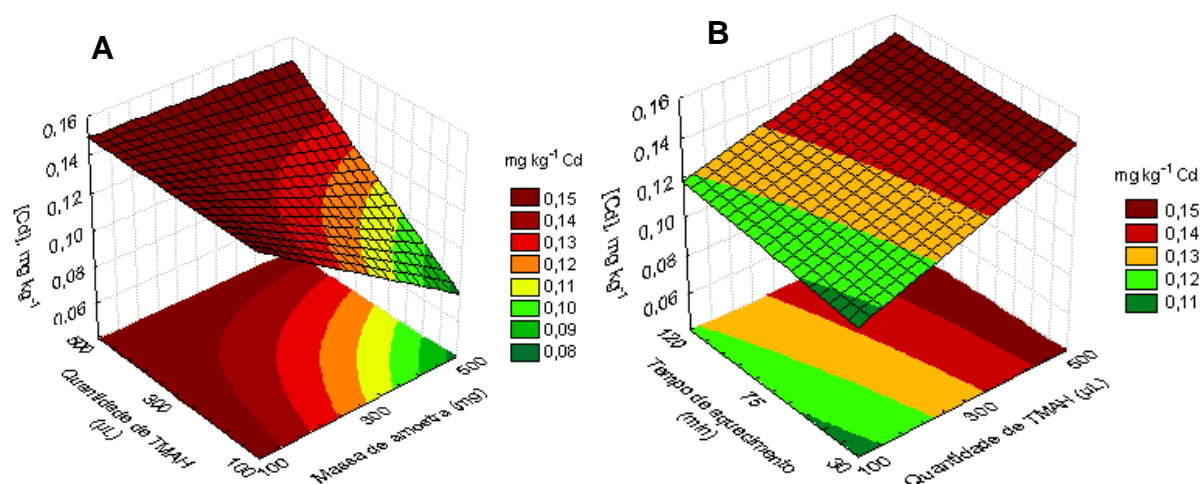
Figura 11. Gráfico de superfície de resposta da concentração de Cd em função das variáveis massa de amostra e volume de TMAH (A) e tempo e volume de TMAH (B).

Na Figura 11 (A) observa-se que a recuperação é insatisfatória para elevada massa de amostra (500 mg) e baixo volume de TMAH (100 µL). Da mesma forma, nesta condição a recuperação permanece insatisfatória independente do tempo de solubilização, conforme mostrado na Figura 11 (B).

4.1.2.2.5. Estabilidade das amostras solubilizadas com TMAH

Considerando que foram obtidos resultados satisfatórios (> 92%) na condição de tratamento em que se empregou 1 + 1 de massa de amostra e volume de TMAH,

realizou-se a avaliação da estabilidade destas amostras tratadas e estocadas a temperatura ambiente. Desta forma, foi usada a amostra de rim preparada com 100 mg de amostra + 100 µL de TMAH e 500 mg de amostra + 500 µL de TMAH, abrangendo toda faixa de massa de amostra avaliada. Assim, nas amostras tratadas com TMAH foi feita a determinação de Cd por ICP OES no período de 1, 15, 30 e 60 dias após o preparo. Os resultados de Cd durante o período estão mostrados na Figura 12.
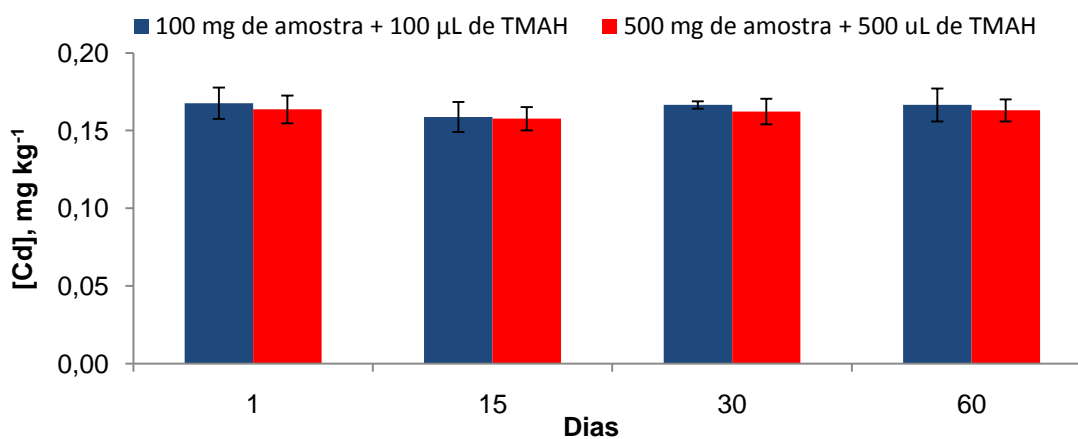
Figura 12. Avaliação da estabilidade das amostras em 1, 15, 30 e 60 dias após tratamento das amostras de rim com TMAH, a 90 ºC por 120 min.

Durante o período avaliado, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os resultados indicando que as soluções permaneceram estáveis por pelo menos 60 dias. Segundo Batista *et al.*[11] soluções obtidas por tratamento de amostras biológicas com TMAH são estáveis durante 3 dias quando estocadas a -20 ºC. Contudo, Silva *et al.*[103] evidenciaram que é possível realizar a estocagem a temperatura ambiente por 3 anos sem qualquer alteração na concentração dos analitos. Cabe salientar que a estabilidade das soluções depende das condições aplicadas, da matriz de amostra e do elemento a ser determinado.

---

[11] **Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29**
[103] **Silva, R. G. L., Willie, S. N., Sturgeon, R. E., Santelli, R. E., Sella, S. M., *Analyst*, 124 (1999) 1843 -1846.**

4.2. TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO

Na determinação por ICP OES foram feitas diluições adequadas para evitar a introdução de alto teor de carbono, que poderia ocasionar obstrução e formação de depósitos no sistema de nebulização ou tubo injetor.[24,86] Entretanto, na determinação por ICP-MS optou-se por não analisar as amostras decompostas por via úmida em sistema aberto e tratadas com TMAH, devido ao alto teor de carbono presente.

Para as determinações por ICP OES e ICP-MS foram utilizadas condições de operação recomendadas pelo fabricante do equipamento. Já para a técnica de GF AAS, foi feita a avaliação das curvas de pirólise e atomização, nas quais foi possível identificar a temperatura máxima de pirólise para o qual não ocorriam perdas de analito e ainda a temperatura onde o sinal do analito foi mais intenso.

Além disso, na análise por GF AAS de amostras tratadas com TMAH, houve a necessidade de estabelecer um programa especial quando o modificador Pd foi utilizado. As soluções com TMAH e soluções ácidas foram adicionadas separadamente no tubo de grafite, a fim de evitar a precipitação na ponta capilar do amostrador automático. Esta precipitação provavelmente ocorre devido à reação com as proteínas na presença de TMAH e HNO_3.[69,93]

A primeira etapa do programa de aquecimento do forno consistiu na introdução do modificador dentro do tubo seguido da etapa de secagem. Em seguida, a ponta do amostrador foi lavada com água antes de adicionar as outras soluções. A sequência das medições consistiu nas seguintes etapas: (1) adição do modificador; (2) secagem do modificador; (3) lavagem do amostrador; (4) adição da amostra e (5) execução das demais etapas do programa de temperatura/tempo do forno. Para as amostras decompostas em meio ácido, a sequência convencional foi utilizada adicionando o modificador seguido da amostra e, posteriormente, aplicando-se o programa convencional de temperatura do forno.[93]

---

[24] **Cal-Prieto, M. J., Felipe-Sotelo, M., Carlosena, A., Andrade, J. M., López-Mahía P., Muniategui, S., Prada, D., *Talanta* 56 (2002) 1 - 51.**

[86] **Nunes, J. A., Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Ni, Pb, e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino, Universidade de São Paulo, Dissertação de mestrado, 2009.**

[69] **Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.**

[93] **Ribeiro, A. S., Curtius, A. J., Pozebon, D., *Microchem. J.* 64 (2000) 105 - 110.**

4.2.1. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para determinações por GF AAS

Para a construção das curvas de pirólise e atomização foram usadas as amostras decompostas com HNO_3 + H_2O_2 e solubilizadas com TMAH, na ausência de modificador e na presença de Pd (1 e 10 µg). Além disso, para o elemento Cd também foi avaliado o modificador $(NH_4)H_2PO_4$ (45 µg) e a mistura de Pd + Mg (10 µg Pd + 6 µg Mg).

4.2.1.1. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para Cd

As curvas de pirólise foram construídas variando-se a temperatura de 400 a 900 ºC com temperatura de atomização mantida em 1200 ºC. Enquanto que a curva de atomização foi construída variando-se a temperatura de 900 a 1600 ºC com temperatura de pirólise mantida em 600 ºC (Figura 13).
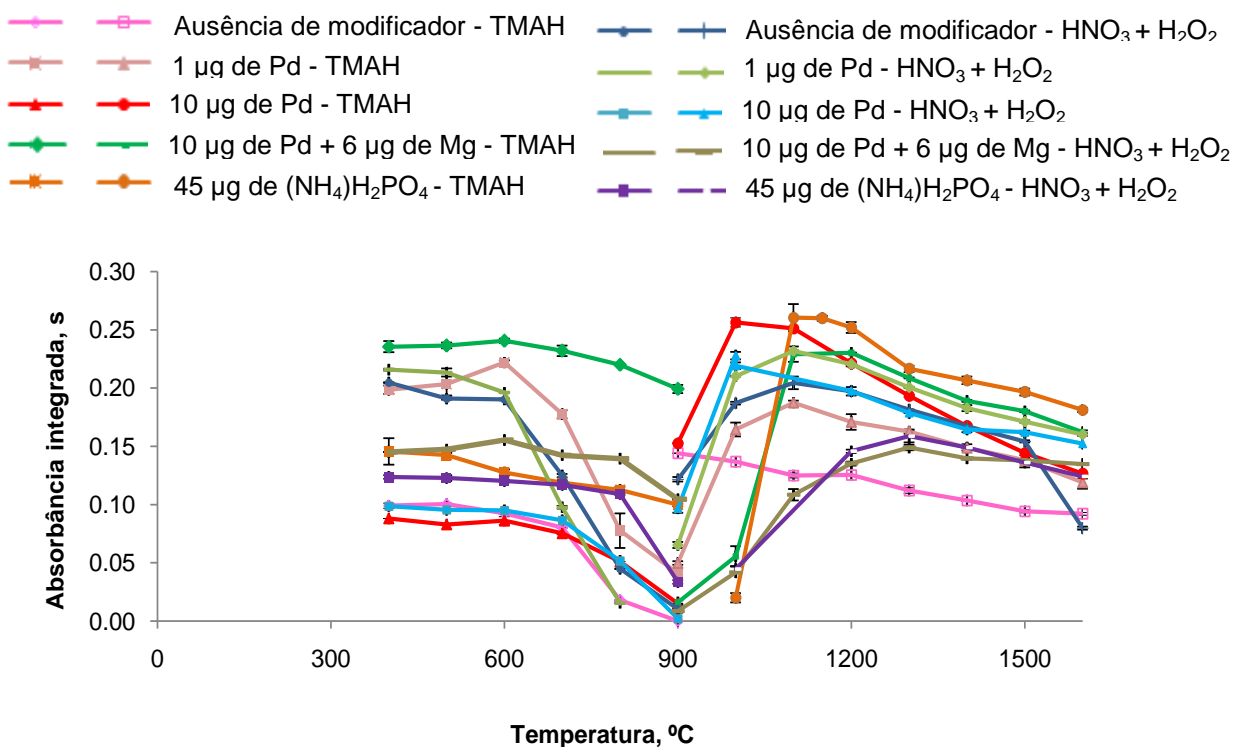
Figura 13. Curvas de pirólise e atomização para Cd em amostra de rim solubilizada com TMAH e decomposta com HNO_3 + H_2O_2.

Primeiramente, os modificadores Pd (10 µg), Pd + Mg e $(NH_4)H_2PO_4$ foram avaliados. Com a utilização de 10 µg de Pd houve diferenças no perfil do sinal analítico de amostras e padrões. Na Figura 14 está mostrado o perfil do sinal para Cd onde se pode observar que a integração dos sinais de amostras e padrões ocorreu em 8 e 20 s, respectivamente. Assim, ficaria inviável a execução de um programa de temperatura com tempo de integração superior a 20 s. Estas diferenças no perfil do sinal provavelmente estão atreladas ao alto teor de matéria orgânica presente na amostra.
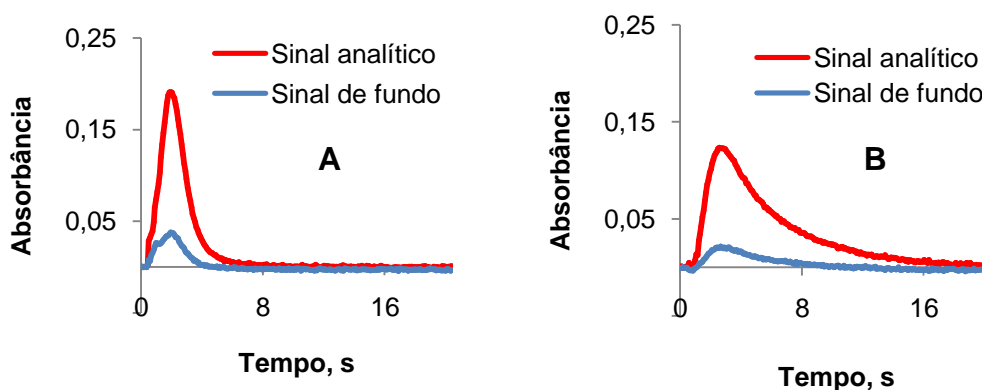
Figura 14. Perfil de sinais para Cd na presença de 10 µg de Pd em amostra de rim tratada com TMAH (A) e 100 pg de padrão (B). T_{pi} = 600 ºC e T_{at} = 1100 ºC.

Com o uso do modificador $(NH_4)H_2PO_4$ o perfil do sinal foi similar tanto para amostras quanto para padrões, porém observou-se elevado sinal de fundo para as amostras decompostas com ácido. Em função destas dificuldades o $(NH_4)H_2PO_4$ não foi utilizado na construção das curvas de pirólise e atomização para As e Pb e ainda foi investigado o uso de Pd em menor concentração àquela discutida anteriormente. Para tanto, fez-se a comparação do perfil dos sinais de Cd nas amostras e padrões utilizando 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,4; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 µg de Pd. Na Figura 15 são mostrados os perfis dos sinais de Cd nas amostras e padrões na presença de 0, 1, 2 e 5 µg de Pd.
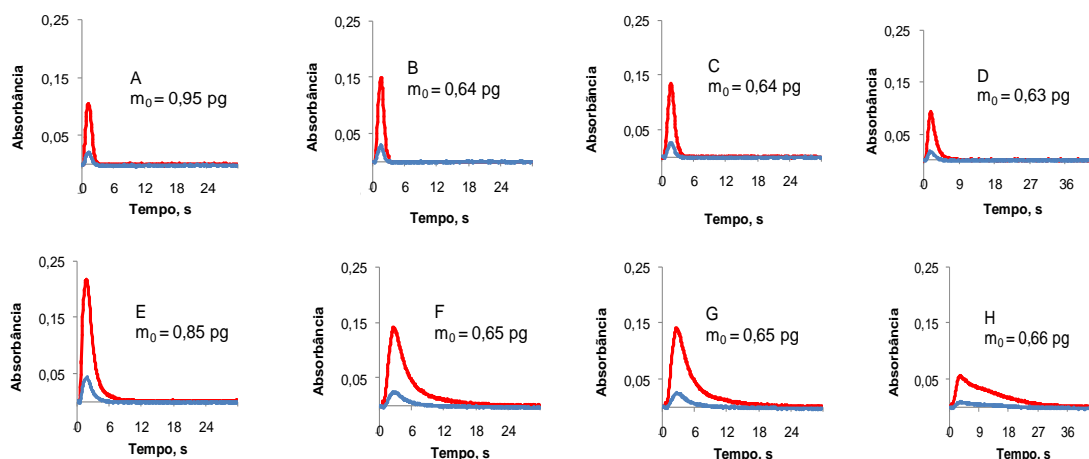
Figura 15. Perfil de sinais de Cd na presença de diferentes massas de Pd. A, B, C e D correspondem à amostra de rim decomposta com HNO_3 + H_2O_2 e E, F, G e H a 100 pg de Cd, ambos com 0, 1, 2 e 5 µg de Pd, respectivamente; T_{pi} = 600 ºC e T_{at} = 1100 ºC; onde ▬ corresponde ao sinal analítico e ▬ ao sinal de fundo; m_0 = massa característica.

Baseado no perfil dos sinais e valores de massa característica foi selecionada a massa de 1 µg de Pd. As temperaturas selecionadas para amostras tratadas com TMAH e HNO_3 foram de 600 ºC de pirólise e 1200 ºC de atomização.

4.2.1.2. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para As

Para construção das curvas de pirólise e atomização, foi necessário efetuar a adição de analito (1 ng As na alíquota) em virtude das amostras apresentarem baixos teores deste elemento. As curvas foram feitas na ausência de modificador e na presença de 1 e 10 µg de Pd. As curvas de pirólise foram construídas variando-se a temperatura de 1000 a 1500 ºC, com temperatura de atomização mantida em 2100 ºC (Figura 16). Já a de atomização foi construída variando-se a temperatura de 1900 a 2500 ºC com temperatura de pirólise mantida em 1300 ºC.

Salienta-se que houve dificuldade em estabelecer curvas de pirólise e atomização para as amostras tratadas com TMAH na ausência de modificador. O elemento apresentou baixa sensibilidade em toda faixa de temperatura, assim tornou-se imprescindível o uso de modificador para estabilização do analito. Na presença de Pd, houve perda de analito a partir da temperatura de pirólise de

1400 ºC. Nas curvas de atomização observou-se que em 2300 ºC a absorvância é máxima e tem-se a menor massa característica. Desta forma, temperaturas de 1300 ºC e 2300 ºC foram escolhidas para pirólise e atomização, respectivamente. Por obter menor massa característica para o As o modificador na condição de 10 µg de Pd foi selecionado.
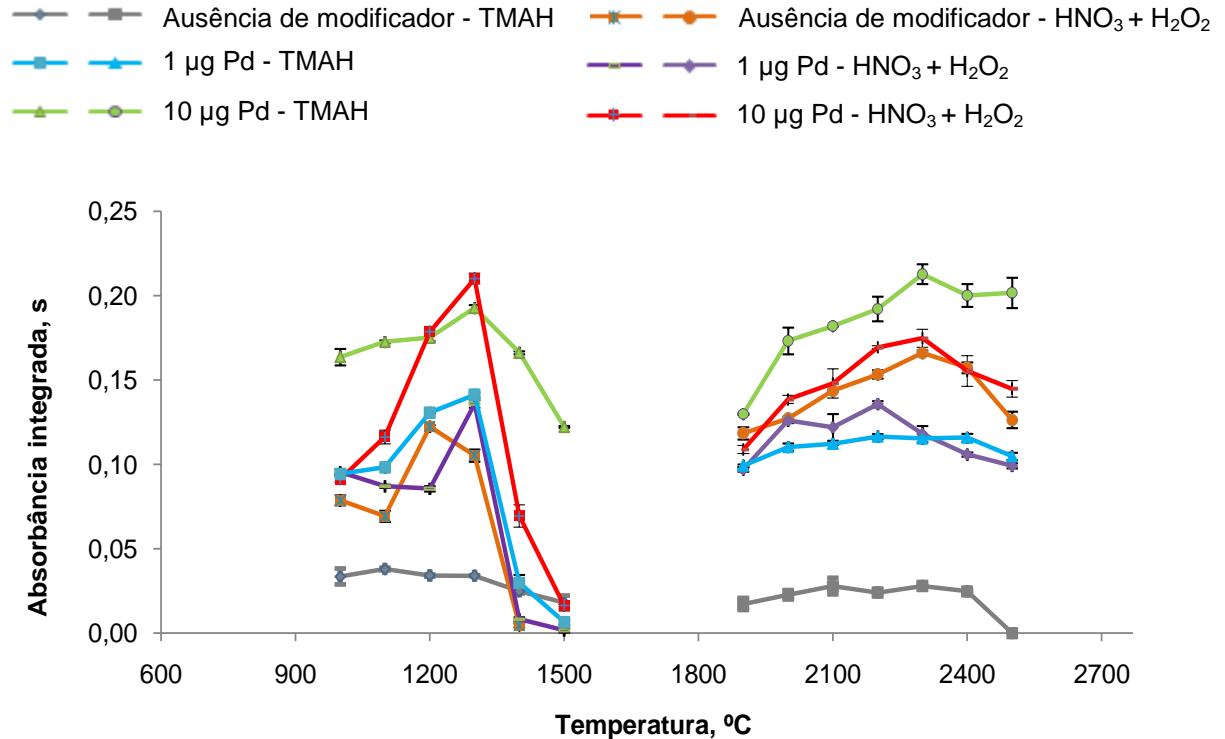
Figura 16. Curvas de pirólise e atomização para As em amostra de rim com adição de As (1 ng de As na alíquota), solubilizada com TMAH e decomposta com $HNO_3 + H_2O_2$.

Na Figura 17 é mostrado o perfil do sinal de As na amostra de rim tratada com TMAH e do padrão de 1 ng de As.
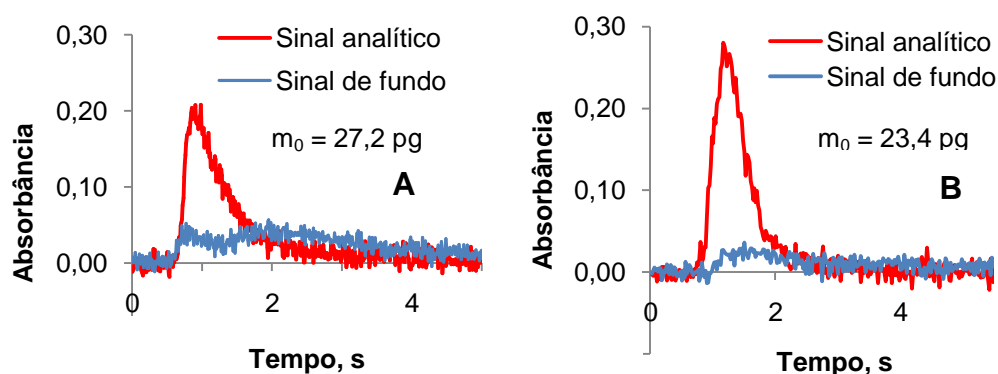
Figura 17. Perfil de sinais de As na presença de 10 µg de Pd em amostra tratada com TMAH com adição de analito de 1 ng de As (A) e 1 ng do padrão de As (B); T_{pi} = 1300 ºC e T_{at} = 2300 ºC; m_0 = massa característica.

4.2.1.3. Otimização da temperatura de pirólise e atomização para Pb

Para a construção das curvas de pirólise e atomização, para Pb foi realizada a adição de analito (1 ng Pb na alíquota) em virtude das amostras apresentarem baixos teores deste elemento. As curvas de pirólise para as amostras tratadas com TMAH e HNO_3 + H_2O_2 foram construídas variando-se a temperatura de 400 a 800 ºC com temperatura de atomização mantida em 2100 ºC. Já as curvas de atomização foram construídas variando-se a temperatura de 1300 a 2100 ºC, com pirólise mantida em 600 ºC.

Na Figura 18 pode se verificar que na ausência de modificador ocorrem perdas significativas de analito em temperatura superior a 600 ºC. O uso de Pd foi avaliado empregando 1 e 10 µg Pd. Comparando-se as curvas para amostras tratadas com TMAH e HNO_3 + H_2O_2 observa-se comportamento térmico similar, o que permite a utilização de um único programa de temperatura. Desta forma, por motivos econômicos, o modificador na condição de 1 µg de Pd foi selecionado. A temperatura de pirólise de 700 ºC e atomização de 1800 ºC foram escolhidas, pois se obtiveram as menores massas características para ambas as condições de preparo de amostra.
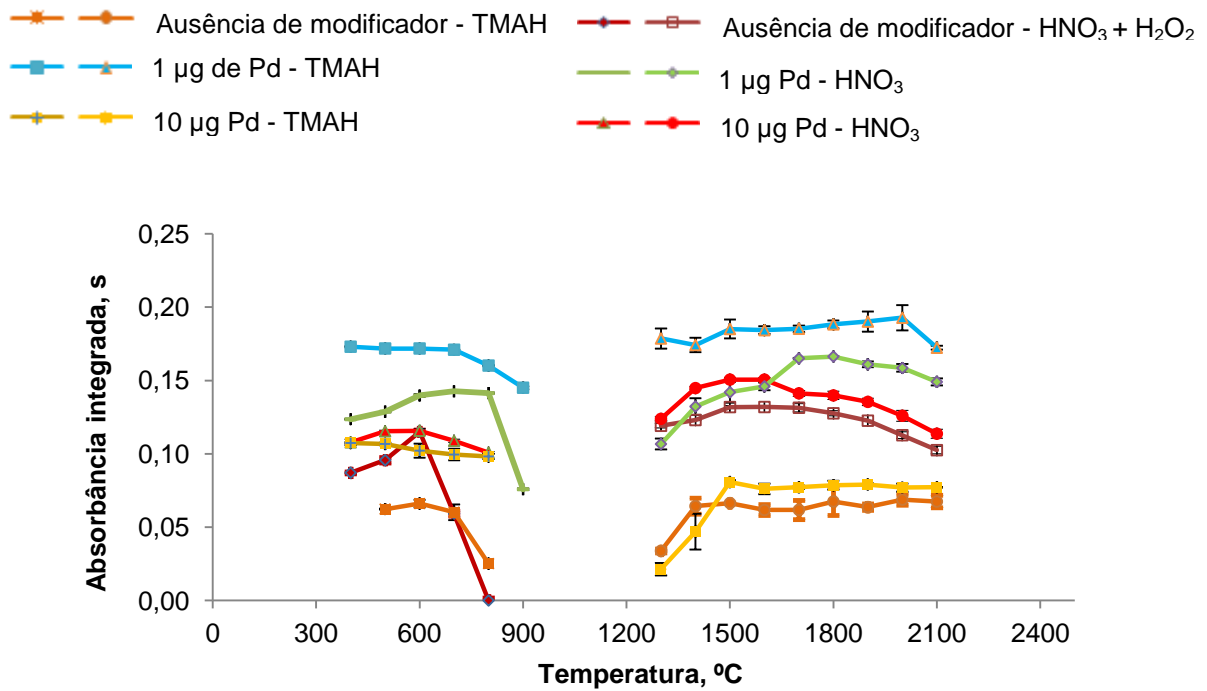
Figura 18. Curvas de pirólise e atomização para Pb em amostra de rim com adição de analito (1 ng de Pb na alíquota) solubilizada com TMAH e decompostas com $HNO_3 + H_2O_2$.

Na Figura 19 está mostrado o perfil do sinal da amostra tratada com TMAH e do padrão de Pb.
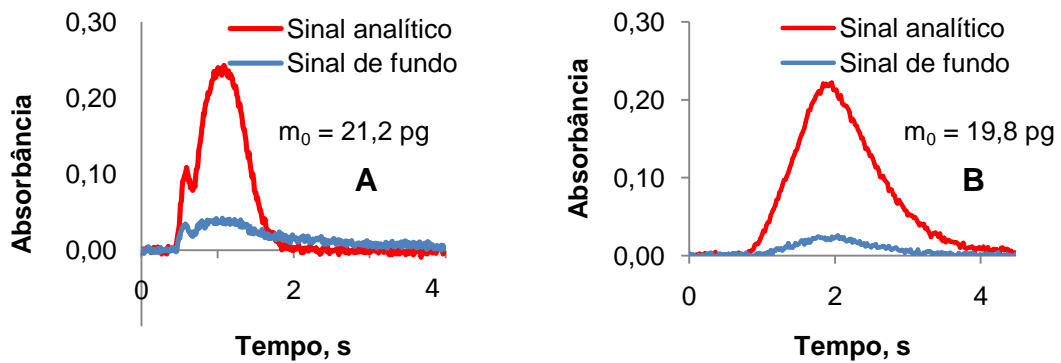
Figura 19. Perfil de sinais de Pb na presença de 1 µg de Pd em amostra de rim tratada com TMAH com adição de analito de 1 ng de Pb (A) e 1 ng de padrão (B); T_{pi} = 800 ºC e T_{at} = 1700 ºC; m_0 = massa característica.

4.2.2. Considerações sobre as condições selecionadas

Baseado nas curvas de pirólise e atomização, foi possível selecionar as condições adequadas de temperatura para determinação de As, Cd e Pb por GF AAS, conforme mostrado na Tabela 13.

Tabela 13. Programa de temperatura para determinação de As, Cd e Pb por GF AAS em amostras tratadas com TMAH e com HNO_3 + H_2O_2.

Elemento	Modificador	Pirólise (ºC)	Atomização (ºC)
As	10 µg de Pd	1300	2300
Cd	1 µg de Pd	600	1200
Pb	1 µg de Pd	700	1800

Os resultados foram concordantes com Ribeiro *et al*.[93] que também evidenciaram comportamento térmico similar para as curvas de pirólise e atomização de As, Cd e Pb obtidas para amostras tratadas com TMAH e com HNO_3, permitindo a utilização de um único programa de temperatura. As temperaturas obtidas foram próximas àquelas de trabalhos reportados na literatura.[12,44,101,102,114]

4.3. COMPARAÇÕES DAS TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO E MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA

4.3.1. Comparação das técnicas ICP-MS, ICP OES e GF AAS

Foi feita a comparação das técnicas ICP-MS, ICP OES e GF AAS para a determinação de As, Cd e Pb em amostras de carne equina, rim suíno e rim bovino, conforme mostrado na Tabela 14. O método de preparo de amostra utilizado foi a

[93] **Ribeiro, A. S., Curtius, A. J., Pozebon, D., *Microchem. J.* 64 (2000) 105 - 110.**
[12] **Batista, B. L., Rodrigues, J. L., Nunes, J. A., Tormen, L., Curtius, A. J., Barbosa, F. J., *Talanta* 76 (2008) 575 - 579.**
[44] **Giacomelli, M. B. O., Lima, M. C., Stupp, V., Carvalho, R. M. J., Silva, J. B. B., Barrera, P. B., *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2151 - 2157.**
[101] **Shah, A. Q., Kazi, T. G., Arain, M. B., Jamali, M. K., Afridi, H. I., Jalbani, N., Kandhro, G. A., Baig, J. A., Sarfraz, R. A., Ansari, R. *Food Chem.* 113 (2009) 1351 - 1355.**
[102] **Silva, J. B. B., Borges, D. L. G., Veiga, M. A. M. S., Curtius, A. J., Welz, B., *Talanta* 60 (2003) 977 - 982.**
[114] **Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Mendil, D., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 163 (2009) 982 - 987.**

decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas por ser um dos métodos recomendados pela AOAC e por ter-se optado por não determinar por ICP-MS as amostras decompostas pelos métodos de decomposição por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH.

Tabela 14. Comparação entre as técnicas ICP-MS, ICP OES e GF AAS para determinação de As, Cd e Pb em amostras de carne (equina) e rim (suíno e bovino) decompostas por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas (mg kg^{-1}, base úmida, *n* = 3).

	Carne equina			Rim suíno			Rim bovino		
	ICP-MS	ICP OES	GF AAS	ICP-MS	ICP OES	GF AAS	ICP-MS	ICP OES	GF AAS
As	< 0,009	< 1,60	< 0,50	< 0,009	< 1,60	< 0,50	0,020 ± 0,003	< 1,60	< 0,50
Cd	0,035 ± 0,003	< 0,07	0,034 ± 0,003	0,231 ± 0,020	0,236 ± 0,016	0,252 ± 0,013	0,303 ± 0,019	0,309 ± 0,013	0,302 ± 0,015
Pb	< 0,007	< 0,70	< 0,08	0,007 ± 0,002	< 0,70	< 0,08	0,073 ± 0,002	< 0 ,70	< 0,08

Os resultados de Cd não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as técnicas de determinação. Os teores de As e Pb foram inferiores aos LDs para ICP OES e GF AAS.

4.3.2. Comparação dos métodos de preparo de amostra recomendados e propostos

Foi feita a determinação de As, Cd e Pb por ICP OES e GF AAS comparando a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas, via seca, via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH. As amostras utilizadas foram carne equina, rim suíno e rim bovino, conforme Tabela 15.

Tabela 15. Comparação dos métodos de decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas, por via seca, por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH para amostras de carne e rim (mg kg^{-1}, base úmida, n = 3).

		Carne equina				**Rim suíno**				**Rim bovino**			
Elementos	Técnica	Via úmida em sistema fechado[a]	Via seca[b]	Via úmida em sistema aberto[c]	TMAH[d]	Via úmida em sistema fechado[a]	Via seca[b]	Via úmida em sistema aberto[c]	TMAH[d]	Via úmida em sistema fechado[a]	Via seca[b]	Via úmida em sistema aberto[c]	TMAH[d]
As	ICP OES	< 1,60	perdas[e]	< 0,38	< 0,55	< 1,60	perdas[e]	< 0,38	< 0,55	< 1,60	perdas[e]	< 0,38	< 0,55
	GF AAS	< 0,50	perdas[e]	< 0,12	< 0,14	< 0,50	perdas[e]	< 0,12	< 0,14	< 0,50	perdas[e]	< 0,12	< 0,14
Cd	ICP OES	< 0,07	0,030 ± 0,003	0,036 ± 0,003	0,035 ± 0,004	0,236 ± 0,016	0,227 ± 0,007	0,233 ± 0,004	0,234 ± 0,010	0,309 ± 0,013	0,298 ± 0,005	0,294 ± 0,013	0,304 ± 0,016
	GF AAS	0,034 ± 0,003	0,033 ± 0,001	0,035 ± 0,004	0,036 ± 0,004	0,252 ± 0,013	0,225 ± 0,015	0,230 ± 0,002	0,236 ± 0,004	0,304 ± 0,004	0,309 ± 0,018	0,303 ± 0,011	0,305 ± 0,030
Pb	ICP OES	< 0,70	< 0,03	< 0,19	< 0,18	< 0,70	< 0,03	< 0,19	< 0,18	< 0,70	0,069 ±0,008	< 0,19	< 0,18
	GF AAS	< 0,08	< 0,002	< 0,009	< 0,04	< 0,08	< 0,002	< 0,009	< 0,04	< 0,08	0,073 ±0,002	0,071 ±0,006	0,074 ±0,003

[a] Decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas: 400 mg de amostra com 5 mL HNO_3 + 2 mL H_2O_2; Temperatura e pressão max. de 280 ºC e 80 bar, respectivamente. Volume final: 30 mL.

[b] Decomposição por via seca: 10 g amostra; 450 ºC/16 h. Volume final: 30 mL

[c] Decomposição por via úmida em sistema aberto: 2 g de amostra; 10 mL de HNO_3 + 1 mL H_2O_2/150 ºC/2 h. Volume final de 30 mL.

[d] Solubilização com TMAH: 500 mg de amostra; 500 µL TMAH/90 ºC/120 min/150 rpm. Volume final de 10 mL.

[e] Ocorrência de perdas de As na decomposição por via seca.

Os resultados de Cd em carne equina, rim suíno e rim bovino não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os métodos de preparo e técnicas de determinação. O teor de As foi inferior ao LD para os métodos de decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas, via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH. Já o elemento Pb pode ser comparado para a amostra de rim bovino, cujos resultados também não apresentaram diferença significativa. Desta forma, pode-se evidenciar que a determinação pode ser realizada pelas técnicas de determinação (ICP OES e GF AAS) e métodos de preparo avaliados, com exceção da decomposição por via seca que tem como limitação a posterior determinação de As.

Para melhor visualização das características dos métodos de preparo avaliados, foi realizada uma comparação conforme mostrado na Tabela 16.

Tabela 16. Comparação dos métodos de decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas, via seca, via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH.

Parâmetros	Via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas	Via seca	Via úmida em sistema aberto	Solubilização com TMAH
Massa de amostra *in natura* (g)	0,4	10	2	0,5
Reagentes	$HNO_3 + H_2O_2$	HNO_3 e HCl	$HNO_3 + H_2O_2$	TMAH
Fator de diluição	60	3	15	20
Tempo de preparo (h)	0,6	16	2	2
Tempo de descontaminação (h)	0,6	24	1	0
Capacidade	8 frascos de quartzo	4 cápsulas de 50 mL	42 tubos de 100 mL	> 42 frascos de 15 mL
Pré-tratamento	Com ou sem liofilização	Pré-secagem a 105 ºC	Com ou sem liofilização	Com ou sem liofilização
Brancos	Baixos	Altos	Baixos	Baixos
Custo relativo	Alto	Médio	Médio	Baixo
Limites de detecção ICP OES (mg kg^{-1}, base úmida)	1,60 (As) 0,07 (Cd) 0,70 (Pb)	Perdas (As)* 0,01 (Cd) 0,03 (Pb)	0,38 (As) 0,03 (Cd) 0,19 (Pb)	0,55 (As) 0,03 (Cd) 0,18 (Pb)
Limite de quantificação ICP OES (mg kg^{-1}, base úmida)	4,60 (As) 0,14 (Cd) 2,00 (Pb)	Perdas (As)* 0,02 (Cd) 0,10 (Pb)	1,25 (As) 0,08 (Cd) 0,47 (Pb)	1,80 (As) 0,10 (Cd) 0,43 (Pb)
Limites de detecção GF AAS (mg kg^{-1}, base úmida)	0,50 (As) 0,004 (Cd) 0,08 (Pb)	Perdas (As)* 0,002 (Cd) 0,002 (Pb)	0,12 (As) 0,001(Cd) 0,009 (Pb)	0,14 (As) 0,001(Cd) 0,04 (Pb)
Limites de quantificação GF AAS (mg kg^{-1}, base úmida)	1,60 (As) 0,014 (Cd) 0,09 (Pb)	Perdas (As)* 0,002 (Cd) 0,004 (Pb)	0,37 (As) 0,03(Cd) 0,08 (Pb)	0,38 (As) 0,02(Cd) 0,11 (Pb)
Técnicas de determinação	ICP-MS, ICP OES, GF AAS	ICP-MS, ICP OES, GF AAS	ICP OES, GF AAS	ICP OES, GF AAS

* Ocorrência de perdas de As na decomposição por via seca

Ao avaliar os LDs dos métodos, pode-se observar que estes são adequados em relação aos limites máximos preconizados na Instrução Normativa nº 08/2010 do Ministério da Agricultura, com exceção de As. No caso do As, os métodos não foram adequados para o preparo de amostra de músculo equino, cujo limite é de 0,010 mg kg^{-1}. Esta faixa de concentração somente foi alcançada pela determinação por ICP-MS quando efetuada decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas. Em relação aos limites de quantificação (LQs) dos métodos propostos, estes não foram adequados para a determinação de As por

ICP OES em músculo equino e de aves, cujos limites máximos são de 0,010 e 0,5 mg kg^{-1}, respectivamente. Portanto, para alcançar esta faixa de concentração, se tornaria necessário a determinação empregando a técnica de CVG acoplada à espectrometria de absorção atômica.

4.3.3. Determinação de As, Cd e Pb em amostras liofilizadas aplicando os métodos de preparo de amostra e técnicas de quantificação propostos

Considerando que todos os experimentos foram realizados com amostra *in natura*, realizou-se a liofilização de algumas amostras para verificar a possível perda de umidade e consequente alteração da concentração de analitos durante o tempo de estocagem (congelamento). Além disso, investigou-se a aplicabilidade dos métodos propostos para amostras liofilizadas.

A massa de amostra seca empregada foi proporcional à condição otimizada para a amostra *in natura*, considerando o teor de umidade. Assim, foram pesadas cerca de 500 mg de amostra liofilizada para o preparo por via úmida em sistema aberto e cerca de 125 mg para a solubilização com TMAH. Na Figura 20 é mostrado o teor de Cd e Pb presente nas amostras de carne equina, rim suíno e bovino *in natura* e liofilizadas. Para fins de comparação os resultados das amostras liofilizadas foram convertidos em *in natura* baseado no teor de umidade. As determinações foram feitas por ICP OES e GF AAS.
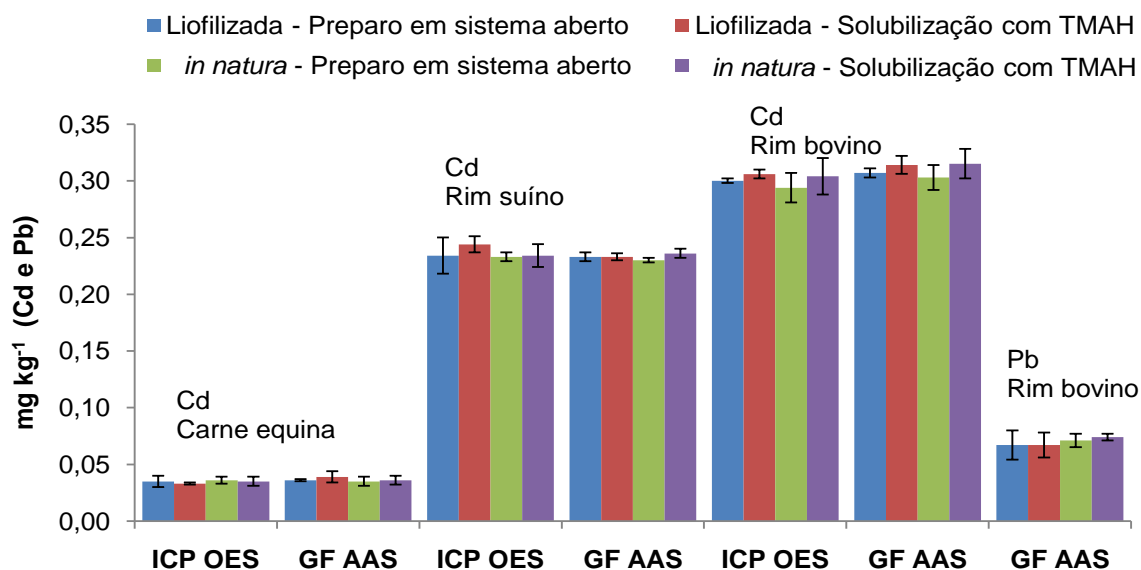
Figura 20. Teor de Cd e Pb determinados em amostras liofilizadas e *in natura*, preparo por via úmida em sistema aberto e solubilição com TMAH. Resultados expressos em base úmida. Os resultados de amostras liofilizadas foram convertidos para base úmida (n = 3).

Os resultados de Cd e Pb não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para as amostras *in natura* e liofilizadas. Já o teor de As foi inferior ao LD. Assim, os métodos propostos podem ser utilizados para ambos os pré-tratamentos de amostra.

4.4. AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DOS ANALITOS E EXATIDÃO DOS MÉTODOS E TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO PROPOSTOS

O teste de recuperação dos analitos foi realizado através da adição de analito (As, Cd e Pb) na amostra de carne equina decomposta por via úmida em sistema aberto e solubilizada com TMAH. Os elementos Cd e Pb foram adicionados na forma inorgânica e As na forma orgânica através do composto Roxarsone, comumente utilizado como aditivo em rações destinadas à alimentação animal. Foi feita a adição de 0,3 µg dos analitos na amostra tratada com TMAH e 0,9 µg na amostra decomposta por via úmida em sistema aberto. A quantidade de analito adicionada nas amostras foi equivalente a 0,30 e 0,45 mg kg^{-1} de cada elemento para a amostra tratada com TMAH e decomposta por via úmida em sistema aberto,

respectivamente. Os resultados obtidos foram satisfatórios (95 a 105%) conforme mostrado na Tabela 17.

Tabela 17. Recuperação de As, Cd e Pb na decomposição de amostra de carne equina por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH. Adição de 0,3 e 0,9 µg dos analitos para a amostra tratada com TMAH e decomposta por via úmida em sistema aberto, respectivamente. Determinação por ICP OES e GF AAS (*n* = 3).

	Recuperação, %			
	Via úmida em sistema aberto		Solubilização com TMAH	
Elementos	ICP OES	GF AAS	ICP OES	GF AAS
As	96	97	95	104
Cd	98	105	100	101
Pb	95	99	96	104

A exatidão dos métodos propostos também foi avaliada através de CRMs, selecionados de modo a possuir características semelhantes à matriz da amostra. Foram utilizados os CRMs de músculo bovino (*Bovine Muscle Powder* 8414) e fígado bovino (*Bovine liver* 1577). A determinação foi feita por ICP OES e GF AAS e os resultados estão mostrados na Tabela 18.

Tabela 18. Resultados obtidos para os métodos de decomposição por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH para posterior determinação de As, Cd e Pb em CRM *Bovine muscle* 8414 e *Bovine Liver* 1577 (mg kg^{-1}, *n* = 3).

		CRM 8414 (Músculo bovino)			**CRM 1577 (Fígado bovino)**		
Analitos	Técnica	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]	Valor certificado	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]	Valor certificado
As	ICP OES	< 1,50	< 2,20	0,009 ± 0,003	< 1,50	< 2,20	0,055 ± 0,05
	GF AAS	< 0,53	< 0,55	0,009 ± 0,003	< 0,53	< 0,55	0,055 ± 0,05
Cd	ICP OES	< 0,11	< 0,21	0,013 ± 0,011	0,26 ± 0,01	0,27 ± 0,02	0,27 ± 0,04
	GF AAS	0,015 ± 0,003	0,015 ± 0,002	0,013 ± 0,011	0,25 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,27 ± 0,04
Pb	ICP OES	< 0,75	< 0,72	0,38 ± 0,24	< 0,75	< 0,72	0,34 ± 0,08
	GF AAS	0,36 ± 0,07	0,35 ± 0,03	0,38 ± 0,24	0,35 ± 0,04	0,35 ± 0,03	0,34 ± 0,08

[a] 500 mg de amostra liofilizada; 10 mL de HNO_3 + 1 mL H_2O_2/150 ºC por 2 h.
[b] 125 mg de amostra liofilizada; 500 µL de TMAH/90 ºC/120 min/150 rpm.

Cabe destacar que houve dificuldade em obter um CRM com características semelhantes à amostra no qual houvesse teores de As, Cd e Pb em concentrações adequadas para a determinação pelos métodos propostos. Contudo, para os elementos que puderam ser quantificados, houve concordância com os valores certificados. Estes resultados indicaram que os métodos propostos podem ser utilizados para posterior determinação dos elementos monitorados em carne, tanto por ICP OES quanto GF AAS.

4.5. DETERMINAÇÃO DE As, Cd E Pb EM CARNE E PRODUTOS CÁRNEOS APLICANDO OS MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA PROPOSTOS

Por fim, após avaliação das condições adequadas, os métodos propostos foram aplicados a amostras de carne (aves, bovina e suína), fígado (suíno) e produtos cárneos (linguiça, presunto e salsicha). Assim, foi feita a decomposição por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH para posterior determinação de As, Cd e Pb por ICP OES e GF AAS. Os resultados são mostrados na Tabela 19.

Nas amostras analisadas somente foi identificada a contaminação de Cd em carne de aves e fígado suíno, porém inferior ao limite máximo da legislação. Para a análise das amostras de linguiça, presunto e salsicha houve dificuldades na determinação por ICP OES nas amostras tratadas com TMAH em virtude do alto teor de gordura visualmente presente e, consequentemente alto teor de RCC, havendo a necessidade de diluir a amostra. Já por GF AAS, apesar de ter sido observado considerável sinal de fundo, não foi necessário proceder à diluição.

Tabela 19. Aplicação dos métodos de preparo de amostra e técnicas de determinação propostos para determinação de As, Cd e Pb em amostras de carne e produtos cárneos (mg kg^{-1}, base úmida, *n* = 3).

		Carne de aves		**Carne bovina**		**Carne suína**		**Fígado suíno**		**Linguiça**		**Presunto**		**Salsicha**	
Analitos	Técnica	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]	Via úmida em sistema aberto[a]	TMAH[b]
As	ICP OES	< 0,38	< 0,55	< 0,38	< 0,55	< 0,38	< 0,55	< 0,38	< 0,55	< 0,38	< 0,55	< 0,38	< 0,55	< 0,38	< 0,55
	GF AAS	< 0,12	< 0,14	< 0,12	< 0,14	< 0,12	< 0,14	< 0,12	< 0,14	< 0,12	< 0,14	< 0,12	< 0,14	< 0,12	< 0,14
Cd	ICP OES	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,038 ± 0,004	0,042 ± 0,003	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
	GF AAS	< 0,001	< 0,001	0,005 ± 0,002	0,004 ±0,001	< 0,001	< 0,001	0,044 ± 0,003	0,043 ± 0,002	< 0,001	< 0,001	< 0,001	<0,001	< 0,001	<0,001
Pb	ICP OES	< 0,19	< 0,18	< 0,19	< 0,18	< 0,19	< 0,18	< 0,19	< 0,18	< 0,19	< 0,18	< 0,19	< 0,18	< 0,19	< 0,18
	GF AAS	< 0,009	< 0,04	< 0,009	< 0,04	< 0,009	< 0,04	< 0,009	< 0,04	< 0,009	< 0,04	< 0,009	< 0,04	< 0,009	< 0,04

[a] Decomposição por via úmida em sistema aberto: 2 g de amostra; 10 mL de HNO_3 + 1 mL H_2O_2/150 ºC por 2 h.

[b] Solubilização com TMAH: 500 mg de amostra; 500 µL de TMAH/90 ºC/120 min/150 rpm.

4.6. COMPARAÇÃO COM OS TEORES DE As, Cd E Pb REPORTADOS NA LITERATURA

Considerando os teores de As, Cd e Pb obtidos nos experimentos realizados neste trabalho, realizou-se uma comparação com os dados reportados na literatura.

Segundo Andree *et al*.[4], em carnes o elemento As geralmente está presente em baixas concentrações e frequentemente inferior ao LD. Para As foram reportados teores de 0,003 a 0,07 mg kg^{-1} [57,64,65,114] em carne de aves, bovina e suína. Já em fígado 0,023 a 0,046 mg kg^{-1} [57,64] e em rim bovino e suíno foram reportados teores na faixa de 0,013 a 0,5 mg kg^{-1}.[14,57,64,65] No presente estudo o teor de As em todas as amostras foi inferior ao LD nas determinações por ICP OES e GF AAS. Nas determinações por ICP-MS os valores de As foram < 0,009 mg kg^{-1} para carne equina e rim suíno e 0,020 mg kg^{-1} para rim bovino.

Os teores de Cd em carne bovina, suína e de aves encontrados na literatura foram de 0,001 a 5,68 mg kg^{-1}.[1,14,48,53,57,64] Em fígado foram reportados 0,019 a 0,112 mg kg^{-1} [1,57,64,65] e em rim 0,110 a 0,458 mg kg^{-1}.[57,64,65] Nas amostras analisadas, os teores de Cd em carne, rim e fígado foram próximos aos reportados na literatura. Para as demais amostras os resultados foram inferiores aos LDs.

Os teores de Pb em carne bovina, suína e de aves reportados na literatura foram de 0,002 a 4,60 mg kg^{-1}.[1,48,53,57,64,65,114] Em fígado e rim foram reportados 0,004 a 0,121 mg kg^{-1} [40,57,64] e 0,008 a 1,3 mg kg^{-1} [1,57,64,65], respectivamente. Nas amostras analisadas somente foi detectada presença de Pb em rim (0,007 a 0,073 mg kg^{-1}), apesar de inferior ao limite máximo estipulado na legislação.

---

[4] **Andrée, S., Jira, W., Schwind, K. H., Wagner, H., Schwägele, F., *Meat Sci.* 86 (2010) 38 - 48.**
[57] **Jorhem, L., Slorach, S., Sundström, B., Ohlin, B., *Food Addit. Contam. Part A* 8 (1991) 201 - 211.**
[64] **López-Alonso, M., Benedito, J. L., Miranda, M., Castillo, C., Hernandez, J., Shore, R. F., *Food Addit. Contam. Part A* 17 (2000) 447 - 457.**
[65] **López-Alonso, M., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J.,García-Vaquero, M., Benedito, J. L., *Food Addit. Contam. Part A* 24 (2007) 943 - 954.**
[114] **Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Mendil, D., Soylak, M., *J. Hazard. Mater.* 163 (2009) 982 - 987.**
[14] **Bilandzic, N., Dokic, M., Sedak' M., *Food Addit. Contam. Part B* 3 (2010) 172 - 177.**
[1] **Abou-Arab, A. A. K., *Food Chem. Toxicol.* 39 (2001) 593 - 599.**
[48] **González-Weller, D., Karlsson, L., Caballero, A., Hernández, F., Gutiérrez' A., González-Iglesias, T., Marino, M., Hardisson, A., *Food Addit. Contam. Part A* 23 (2006) 757 - 763.**
[53] **Iwegbue, C. M. A., Nwajei G. E., Iyoha E. H., *Bulg. J. Vet. Med.* 11 (2008) 275 - 280.**
[40] **Falandysz, J., *Food Addit. Contam. Part A* 8 (1991) 71 - 83.**

5. CONCLUSÕES

Os métodos propostos (decomposição por via úmida em sistema aberto e solubilização com TMAH) foram considerados adequados para a posterior determinação de As, Cd e Pb em carne e produtos cárneos. As principais vantagens foram a elevada frequência de análise e o baixo custo. A solubilização com TMAH apresentou ainda simplicidade e rapidez no preparo. Já a decomposição por via úmida em sistema aberto, apesar de ter apresentado alto teor de RCC, não apresentou problemas na quantificação por GF AAS e ICP OES. Ademais, estes métodos de preparo de amostras propostos puderam ser aplicados tanto para amostra *in natura* quanto liofilizada. A aplicação de amostra *in natura* teve como vantagens a rapidez e menor risco de contaminação devido à ausência de procedimentos de secagem e subsequente moagem. Salienta-se, no entanto, que devem ser observadas as recomendações quanto à qualidade do ar do laboratório e dos materiais para a satisfatória aplicação dos procedimentos propostos por tratar-se de sistemas abertos. Além disso, deve ser observada a compatibilidade dos métodos propostos com as várias técnicas de determinação.

Em relação aos métodos de preparo de amostra recomendados pela AOAC, a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas foi considerada adequada, porém na decomposição por via seca houve perdas de As, indicando que este método é impróprio para a posterior determinação de As. Para Cd e Pb os resultados por via seca foram satisfatórios, porém o procedimento apresentou morosidade.

As técnicas de quantificação empregando ICP OES e GF AAS apresentaram recuperação de analito satisfatória e concordância com CRMs tanto para as amostras decompostas por via úmida em sistema aberto quanto solubilizadas com TMAH. Os LDs também foram convenientes em relação aos limites máximos preconizados na legislação vigente, com exceção de As em músculo. Neste caso, tornaria-se necessário o desenvolvimento de metodologia para quantificação por técnicas mais sensíveis, como por exemplo, CVG.

As amostras de carne (aves, bovina, equina e suína), fígado (suíno), rim (bovino e suíno) e produtos cárneos (linguiça, presunto e salsicha) analisadas apresentaram teores de As, Cd e Pb inferiores aos limites máximos preconizados na legislação vigente.

Portanto, as metodologias propostas foram consideradas adequadas e podem ser empregadas com sucesso para o preparo de amostras de carnes e produtos cárneos para posterior determinação de As, Cd e Pb por ICP OES e GF AAS.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abou-Arab, A. A. K., Heavy metals contents in Egyptian meat and the role of detergent washing on their leves, *Food Chem. Toxicol.* 39 (2001) 593 - 599.
2. Acar, O., Determination of cadmium and lead in biological samples by Zeeman ETAAS using various chemical modifiers, *Talanta* 55 (2001) 613 - 622.
3. Ahamed, M., Siddiqui, M. K. J., Environmental lead toxicity and nutritional factors, *Clinic. Nutrit.* 26 (2007) 400 - 408.
4. Andrée, S., Jira, W., Schwind, K. H., Wagner, H., Schwägele, F., Chemical safety of meat and meat products, *Meat Sci.* 86 (2010) 38 - 48.
5. Arruda, M. A. Z., Santelli, R. E., Mecanização no preparo de amostras por micro-ondas: o estado da arte, *Quím. Nova* 20 (1997) 638 - 643.
6. Barałkiewicz, D., Fast determination of lead in lake sediment samples using electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry samples introduction, *Talanta* 56 (2002) 105 - 114.
7. Barbosa, F. J., Palmer, C. D., Krug, F. J., Parsons, P. J., Determination of total mercury in whole blood by flow injection cold vapor atomic absorption spectrometry with room temperature digestion using tetramethylammonium hydroxide, *J . Anal . At . Spectrom*. 19 (2004) 1000 - 1005.
8. Barin, J. S., Desenvolvimento de procedimentos alternativos de preparo e de determinação de metais pesados em fármacos tricíclicos, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFSM, Santa Maria - RS, 2007.
9. Barin, J. S., Determinação de metais e não metais em produtos farmacêuticos após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por micro-ondas. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas, UFSM, Santa Maria - RS, 2003.
10. Basu, A., Mahata, J., Gupta, S., Giri, A. K., Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review, *Mutat. Res.* 488 (2001) 171 - 194.
11. Batista, B. L., Grotto, D., Rodrigues, J. L., Souza, V. C. O., Barbosa, F. J., Determination of trace elements in biological samples by inductively coupled

plasma mass spectrometry with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature, *Anal. Chim. Acta* 646 (2009) 23 - 29.

12. Batista, B. L., Rodrigues, J. L., Nunes, J. A., Tormen, L., Curtius, A. J., Barbosa, F. J., Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: Comparison with ETAAS, *Talanta* 76 (2008) 575 - 579.
13. Bertin, G., Averbeck, D., Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA, repair and genotoxic consequences (a review), *Biochimie* 88 (2006) 1549 - 1559.
14. Bilandzic, N., Dokic, M., Sedak' M., Survey of arsenic, cadmium, copper, mercury and lead in kidney of cattle, horse, sheep and pigs from rural areas in Croatia, *Food Addit. Contam. Part B* 3 (2010) 172 - 177.
15. Boutakhrit, K., Claus, R., Bolle, F., Degroodt, J. M., Goeyens, L., Open digestion under reflux for the determination of total arsenic in seafood by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with hydride generation, *Talanta* 66 (2005) 1042 - 1047.
16. Brasil. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas. Relatório de Resultados PNCRC 2008. Disponível em http://www2.dgv.minagricultura.pt/higiene_publica/docs/Relat%C3%B3rio resultados2008.pdf. Acesso em: 15/06/2011.
17. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 42, de 22 de dezembro de 1999. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (1999).
18. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Oficializa Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e salmoura. *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (1999).
19. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 08, de 29 de abril de 2010. Altera o Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes. *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (2010).

20. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 31, de 29 de janeiro de 2002. Determina o cancelamento dos registros, na área de alimentos para animais, de todos os produtos formulados com princípios ativos a base de arsenicais e antimoniais. *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (2002).
21. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 86, de 26 de janeiro de 1979. Aprova o Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Carnes. *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (1979).
22. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 06, de 25 de fevereiro de 2011. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes, Leites, Ovos, Mel e Pescado do exercício de 2010. *Diário Oficial da União,* Brasília, DF (2011).
23. Buldini, P. L., Ricci, L., Sharma, J. L., Recent applications of sample preparation techniques in food analysis, *J. Chromatogr. A* 975 (2002) 47 - 70.
24. Cal-Prieto, M. J., Felipe-Sotelo, M., Carlosena, A., Andrade, J. M., López-Mahía P., Muniategui, S., Prada, D., Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000, *Talanta* 56 (2002) 1 - 51.
25. Carrilho, E. N. V. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., Souza, G. B., Cruz, G. M., An attempt to correlate fat and protein content of biological samples with residual carbon after microwave-assisted digestion, *Fresenius J. Anal. Chem.* 371 (2001) 536 - 540.
26. Cernohorsky, T., Krejová, A., Pouzar, M., Vavrusova, L., Elemental analysis of flour-based ready-oven foods by slurry sampling inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Food Chem.* 106 (2008) 1246 - 1252.
27. Cervera, M. L., Lopez, J. C., Montoro, R., Determination of arsenic in orange juice by dry ashing hydride generation atomic absorption spectrometry, *Microchem. J.* 49 (1994) 20 - 26.
28. Cheng, H., Hu, Y., Lead (Pb) isotopic fingerprinting and its applications in lead pollution studies in China: a review, *Environ. Pollut.* 158 (2010) 1134 - 1146.

29. Cid, B. P., Boia, C., Pombo, L., Rebelo, E., Determination of trace metals in fish species of the Ria de Aveiro (Portugal) by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Food Chem.* 75 (2001) 93 - 100.
30. Commission regulation (EC) Nº 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, *Official J. Europ. Union* (2006) L364/5-24.
31. Commission Regulation (EC) Nº 333/2007 of 28 March 2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, Mercury, inorganic tin, 3- MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs, *Official J. Europ. Union (2007)* L88/29-38.
32. Coni, E., Bocca, A., Coppolelli, P., Caroli, S., Cavallucci, C., Marinucci, M. T., Minor and trace element content in sheep and goat milk and dairy products, *Food Chem.* 57 (1996) 253 - 260.
33. Damin, I. C. F., Investigação da amostragem direta para determinação de elementos traço em carne in natura e em petróleo usando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, UFRGS, Porto Alegre - RS, 2009.
34. Damin, I. C. F., Silva, M. M., Vale, M. G. R., Welz, B., Feasibility of using direct determination of cadmium and lead in fresh meat by electrothermal atomic absorption spectrometry for screening purposes, *Spectrochim. Acta Part B* 62 (2007) 1037 - 1045.
35. Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M., Evaluation of various digestion procedures for trace element contents of some food materials, *J. Hazard. Mater.* 152 (2008) 1020 - 1026.
36. Duker, A. A., Carranza, E. J. M., Hale M., Arsenic geochemistry and health. *Environ. Int.* 31 (2005) 631 - 641.
37. EFSA, European Food Safety Authority, Cadmium in food: scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *EFSA J*. (2009), Disponível em: www.efsa.europa.eu. Acesso em: 14/09/2011.
38. EFSA, European Food Safety Authority, Panel on Contaminants in the Food Chain; Scientific Opinion on Arsenic in Food, *EFSA J.* (2009), Disponível em: www.efsa.europa.eu. Acesso em: 14/09/2011.

39. EFSA, European Food Safety Authority, Panel on contaminants in the food chain; scientific opinion on lead in food. *EFSA J.* (2010), Disponível em: www.efsa.europa.eu. Acesso em: 14/09/2011.

40. Falandysz, J., Manganese, copper, zinc, iron, cadmium, mercury and lead in muscle meat, liver and kidneys of poultry, rabbit and sheep slaughtered in the northern part of Poland, 1987, *Food Addit. Contam. Part A* 8 (1991) 71 - 83.

41. Fecher, P. A., Goldmann, I., Nagengast, A., Determination of iodine in food samples by inductively coupled plasma mass spectrometry after alkaline extraction, *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 977 - 982.

42. Flores, E. M. M., Mesko, M.F., Moraes, D. P., Pereira, J. S. F., Mello, P. A., Barin, J. S., Knapp, G., Determination of halogens in coal after digestion using the microwave-induced combustion technique, *Anal. Chem.* 80 (2008) 1865 - 1870.

43. García-Lestón, J., Méndez, J., Pásaro, E., Laffon, B., Genotoxic effects of lead: An updated review, *Environ. Int.* 36 (2010) 623 - 636.

44. Giacomelli, M. B. O., Lima, M. C., Stupp, V., Carvalho, R. M. J., Silva, J. B. B., Barrera, P. B., Determination of As, Cd, Pb and Se in DORM-1 dogfish muscle reference material using alkaline solubilization and electrothermal atomic absorption spectrometry with Ir + Rh as permanent modifiers or Pd + Mg in solution, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 2151 - 2157.

45. Giné-Rosias, M. F., *Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP AES)*, Piracicaba: CENA (1998), 148 p.

46. Giné-Rosias, M. F., *Espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS)*, Piracicaba: CENA (1999), 118 p.

47. Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nobrega, J. A., Nogueira, A. R. A., Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products, *Talanta* 79 (2009) 396 - 401.

48. González-Weller, D., Karlsson, L., Caballero, A., Hernández, F., Gutiérrez, A., González-Iglesias, T., Marino, M., Hardisson, A., Lead and cadmium in meat and meat products consumed by the population in Tenerife Island, Spain, *Food Addit. Contam. Part A* 23 (2006) 757 - 763.

49. Gouveia, S. T., Silva, F. V., Costa, L. M., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., Determination of residual carbon by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations, *Anal. Chim. Acta* 445 (2001) 269 - 275.
50. Hoenig, M., Preparation steps in environmental trace element analysis - facts and traps, *Talanta* 54 (2001) 1021- 1038.
51. Hughes, M. F., Arsenic toxicity and potential mechanisms of action, *Toxicol. Let.* 133 (2002) 1 - 16.
52. Il'yasova, D., Schwartz, G. G., Cadmium and renal cancer, *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 207 (2005) 179 - 186.
53. Iwegbue, C. M. A., Nwajei G. E., Iyoha E. H., Heavy metal residues of chicken meat and gizzard and turkey meat consumed in southern Nigeria, *Bulg. J. Vet. Med.* 11 (2008) 275 - 280.
54. Järup, L., Åkesson, A., Current status of cadmium as an environmental health problem, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238 (2009) 201 - 208.
55. Jarvis, K. E., Gray, A. L., Houk, R. S., *Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry*. Blackie, USA, 1992, 380 p.
56. Johnson, F. M., The genetic effects of environmental lead, *Mutat. Res.* 410 (1998) 123 - 140.
57. Jorhem, L., Slorach, S., Sundström, B., Ohlin, B., Lead, cadmium, arsenic and mercury in meat, liver and kidney of Swedish pigs and cattle in 1984 - 1988, *Food Addit. Contam. Part A* 8 (1991) 201 - 211.
58. Joseph, P., Mechanisms of cadmium carcinogenesis, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238 (2009) 272 - 279.
59. Kingston, H. M., Jassie, L. B., Microwave acid sample decomposition for elemental analysis, *J. Res. Natl. Bur. Stand.* 93 (1988) 269 - 274.
60. Kira, C. S., Maihara, V. A., Determination of major and minor elements in dairy products through inductively coupled plasma optical emission spectrometry after wet partial digestion and neutron activation analysis, *Food Chem.* 100 (2007) 390 - 395.
61. Korn, M. G. A., Boa Morte, E. S., Santos, D. C. M. B., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., Santos, W. P. C., Santos, E.

B. G. N., Korn, M., Sample Preparation for the Determination of Metals in Food Samples Using Spectroanalytical Methods - A Review, *Appl. Spectrosc. Rev.* 43 (2008) 67 - 92.

62. Krug, F. J., *Métodos de Preparo de Amostras - Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1ª Edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2008), 200 p.
63. Liu, J., Sturgeon R. E., Willie, S. N., Open-focused Microwave-assisted Digestion for the Preparation of Large Mass Organic Samples, *Analyst* 120 (1995) 1905 - 1909.
64. López-Alonso, M., Benedito, J. L., Miranda, M., Castillo, C., Hernandez, J., Shore, R. F., Toxic and trace elements in liver, kidney and meat from cattle slaughtered in Galicia (NW Spain), *Food Addit. Contam. Part A* 17 (2000) 447 - 457.
65. López-Alonso, M., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J.,García-Vaquero, M., Benedito, J. L., Toxic and essential metals in liver, kidney and muscle of pigs at slaughter in Galicia, north-west Spain, *Food Addit. Contam. Part A* 24 (2007) 943 - 954.
66. López-García, I., Viñas, P., Romero-Romero, R., Hernández-Córdoba, M., Fast determination of phosphorus in honey, milk and infant formulas by electrothermal atomic absorption spectrometry using a slurry sampling procedure, *Spectrochim. Acta Part B* 62 (2007) 48 - 55.
67. Mandal, B. K., Suzuki, K. T., Arsenic round the world: a review, *Talanta* 58 (2002) 201 - 235.
68. Marçal, W. S., Gaste, L., Nascimento, M. R. L., Identificação e quantificação de chumbo em misturas minerais comercializadas no estado de São Paulo, *Ciência Animal Bras.* 6 (2005) 249 - 253.
69. Martins, P., Pozebon, D., Dressler, V. L., Kemieciki, G. A., Determination of trace elements in biological materials using tetramethylammonium hydroxide for sample preparation, *Anal. Chim. Acta* 470 (2002) 195 - 204.
70. Matos, W. O., Menezes, E. A., Gonzalez, M. H., Costa, L. M., Trevizan, L. C., Nogueira, A. R. A., Partial microwave-assisted wet digestion of animal tissue using a baby-bottle sterilizer for analyte determination by inductively coupled

plasma optical emission spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 64 (2009) 615 - 618.

71. Matusiewicz, H., Golik, B., Determination of major and trace elements in biological materials by microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP-OES) following tetramethylammonium hydroxide (TMAH) solubilization, *Microchem. J.* 76 (2004) 23 - 29.

72. Matusiewicz, H., Sturgeon, R. E., Berman, S. S., Trace Element Analysis of Biological Material Following Pressure Digestion With Nitric Acid - Hydrogen Peroxide and Microwave Heating, *J. Anal. At. Spectrom*. 4 (1989) 323 - 327.

73. McKinstrya, P. J., Indyka, H. E., Kimb, N. D., The determination of major and minor elements in milk and infant formula by slurry nebulisation and inductively coupled plasma - optical emission spectrometry (ICP-OES), *Food Chem*. 65 (1999) 245 - 252.

74. Mendil, D., Uluozlu, O. D., Hasdemir, E., Tuzen, M., Sari, H., Suiçmez, M., Determination of trace metal levels in seven fish species in lakes in Tokat, Turkey, *Food Chem.* 90 (2005) 175 - 179.

75. Mesko, M. F., Combustão iniciada por micro-ondas em sistema fechado para decomposição de amostras biológicas, Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Química, UFSM, Santa Maria - RS, 2004.

76. Meyer, P. A., Brown, M. J., Falk, H., Global approach to reducing lead exposure and poisoning, *Mutat. Res.* 659 (2008) 166 - 175.

77. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. A Cadeia Produtiva de Carnes. Disponível em http://www.mdic.gov.br//sitio/interna/interna.php?area=2&menu=855. Acesso em: 11/08/2011.

78. Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., Investigation of four digestion procedures for multi-element determination of toxic and nutrient elements in legumes by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 565 (2006) 81 - 88.

79. Momen, A. A., Zachariadis, G. A., Anthemidis, A. N., Stratis, J. A., Use of fractional factorial design for optimization of digestion procedures followed by

multi-element determination of essential and non-essential elements in nuts using ICP OES technique, *Talanta* 71 (2007) 443 - 451.

80. Monteiro, M., Santos, C., Mann, R. M., Soares, A. M. V. M., Lopes, T., Evaluation of cadmium genotoxicity in *Lactuca sativa L.* using nuclear microsatellites, *Environ. Exp. Bot.* 60 (2007) 421 - 427.
81. Nóbrega, J. A., Gélinas, Y., Krushevska, A., Barnes, R. M., Determination of Elements in Biological and Botanical Materials by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission and Mass Spectrometry After Extraction With a Tertiary Amine Reagent, *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 1239 - 1242.
82. Nóbrega, J. A., Santos, M. C., Sousa, R. A., Cadore, S., Barnes, R. M., Tatro, M., Sample preparation in alkaline media, *Spectrochim. Acta Part B* 61 (2006) 465 - 495.
83. Nóbrega, J. A., Trevizan, L. C., Araújo, G. C. L., Nogueira, A. R. A., Review: Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 1855 - 1876.
84. Nölte, J., *ICP Emission Espectrometry - A pratical guide*. VCH, USA (2003), 267 p.
85. Nomura, C. S., Silva, C. S., Oliveira, P. V., Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. *Quim. Nova* 31 (2008) 104 - 113.
86. Nunes, J. A., Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Ni, Pb, e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino, Universidade de São Paulo, Dissertação de mestrado, 2009.
87. Official Methods of Analysis - AOAC International, 18 th, ed. Gaithersburg (2006). a) Official Method 999.10 (9.1.08) p.16; b) Official Method 999.11 (9.1.09), p. 19 e c) Official Method 982.23 (9.01.02) p. 3.
88. Ortiz, A. I. C., Albarrán, Y. M., Rica, C. C., Evaluation of different sample pre-treatment and extraction procedures for mercury speciation in fish samples, *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 1595 - 1601.
89. Park, C. J., Do, H., Determination of inorganic and total mercury in marine biological samples by cold vapor generation inductively coupled plasma mass

spectrometry after tetramethylammonium hydroxide digestion, *J. Anal. At. Spectrom*. 23 (2008) 997 - 1002.

90. Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., Determination of trace elements in biological materials by ETV-ICP-MS after dissolution or slurry formation with tetramethylammonium hydroxide, *J. Anal. At. Spectrom*. 13 (1998) 1101 - 1105.
91. Pozebon, D., Dressler, V. L., Curtius, A. J., Determination of volatile elements in biological materials by isotopic dilution ETV-ICP-MS after dissolution with tetramethylammonium hydroxide or acid digestion, *Talanta 51* (2000) 903 - 911.
92. Reid, H. J., Greenfield, S., Edmonds, T. E., Investigation of Decomposition Products of Microwave Digestion of Food Samples, *Analyst,* 120 (1995) 1543 - 1548.
93. Ribeiro, A. S., Curtius, A. J., Pozebon, D., Determination of As, Cd, Ni and Pb in human hair by electrothermal atomic absorption spectrometry after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide, *Microchem. J.* 64 (2000) 105 - 110.
94. Ribeiro, A. S., Vieira, M. A., Silva, A. F., Borges, D. L. G., Welz, B., Heitmann, U., Curtius, A. J., Determination of cobalt in biological samples by line-source and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry using solid sampling or alkaline treatment, *Spectrochim. Acta Part B* 60 (2005) 693 - 698.
95. Ridgway K., Lalljie S. P. D., Smith R. M., Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods, *J. Chromatogr. A* 1153 (2007) 36 - 53.
96. Rodrigues, J. L., Nunes, J. A., Batista, B. L., Souza, S. S., Barbosa, F. J., A fast method for the determination of 16 elements in hair samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature, *J. Anal. At. Spectrom*. 23 (2008) 992 - 996.
97. Rodrigues, J. L., Torres, D. P., Souza, V. C. O., Batista, B. L., Souza, S. S., Curtius, A. J., Barbosa, F. J., Determination of total and inorganic mercury in whole blood by cold vapor inductively coupled plasma mass spectrometry

(CV-ICP-MS) with alkaline sample preparation, *J. Anal. At. Spectrom*. 24 (2009) 1414 - 1420.

98. Rodushkin, I., Ruth, T., Huhtasaari, A., Comparison of two digestion methods for elemental determinations in plant material by ICP techniques, *Anal. Chim. Acta* 378 (1999) 191 - 200.

99. Rudy, M., The analysis of correlations between the age and the level of bioaccumulation of heavy metals in tissues and the chemical composition of sheep meat from the region in SE Poland, *Food Chem. Toxicol.* 47 (2009) 1117 - 1122.

100. Saracoglu, S., Saygi, K. O., Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Soylak, M., Determination of trace element contents of baby foods from Turkey, *Food Chem.* 105 (2007) 280 - 285.

101. Shah, A. Q., Kazi, T. G., Arain, M. B., Jamali, M. K., Afridi, H. I., Jalbani, N., Kandhro, G. A., Baig, J. A., Sarfraz, R. A., Ansari, R. Comparison of electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of total arsenic in broiler chicken, *Food Chem.* 113 (2009) 1351 - 1355.

102. Silva, J. B. B., Borges, D. L. G., Veiga, M. A. M. S., Curtius, A. J., Welz, B., Determination of cadmium in biological samples solubilized with tetramethylammonium hydroxide by electrothermal atomic absorption spectrometry, using ruthenium as permanent modifier, *Talanta* 60 (2003) 977 - 982.

103. Silva, R. G. L., Willie, S. N., Sturgeon, R. E., Santelli, R. E., Sella, S. M., Alkaline solubilization of biological materials for trace element analysis by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analyst*, 124 (1999) 1843 - 1846.

104. Spisso, B. F., Nóbrega, A. W., Marques, M. A. S., Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios, *Ciência & Saúde Colet.* 14 (2009) 2091 - 2106.

105. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*; 21st ed., Method 5520 D (2005) 5 - 40.

106. Sturgeon, R. E., Graphite furnace atomic absorption spectrometry and environmental challenges at the ultratrace level a review, *Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1451 - 1457.
107. Tao, G., Scott N. W., Sturgeon, R. E., Determination of total mercury in biological tissues by flow injection cold vapour generation atomic absorption spectrometry following tetramethylammonium hydroxide digestion, *Analyst* 123 (1998) 1215 - 1218.
108. Teixeira, A. O., Lopes, D. C., Ribeiro, M. C. T., Lopes, J. B., Ferreira, V. P. A., Vitti, D. M. S. S., Moreira, J. A., Pena, S. M., Composição química de diferentes fontes de fósforo e deposição de metais pesados em tecidos de suínos, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57 (2005) 502 - 509.
109. Tokman, N., The use of slurry sampling for the determination of manganese and copper in various samples by electrothermal atomic absorption spectrometry, *J. Hazard. Mat.* 143 (2007) 87 - 94.
110. Torres, D. P., Frescura, V. L. A., Curtius, A. J., Simple mercury fractionation in biological samples by CV AAS following microwave-assisted acid digestion or TMAH pre-treatment, *Microchem. J.* 93 (2009) 206 - 210.
111. Tsalev, D. L., Slaveykova, V. I., Mandjukov P. B., Chemical modification in graphite-furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Rev.* 13 (1990) 225 - 274.
112. Tüzen, M., Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Food Chem.* 80 (2003) 119 - 123.
113. Tüzen, M., Silici, S., Mendil, D., Soylak, M., Trace element levels in honeys from different regions of Turkey, *Food Chem.* 103 (2007) 325 - 330.
114. Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Mendil, D., Soylak, M., Assessment of trace element contents of chicken products from turkey, *J. Hazard. Mater.* 163 (2009) 982 - 987.
115. Valdes, C, Brazil Emerges as Major Force in Global Meat Markets. Disponível http://www.ers.usda.gov/AmberWaves/April06/Findings/Brazil.htm. Acesso em: 11/08/2011.

116. Vassileva, E., Docekalova, H., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Hoenig, M., Revisitation of mineralization modes for arsenic and selenium determinations in environmental samples, *Talanta* 54 (2001) 187 - 196.
117. Viñas, P., Campilio, N., López-Garcia, I., Hernández-Córdoba, M., Slurry atomization of vegetables for the electrothermal atomic absorption spectrometric analysis of lead and cadmium, *Food Chem.* 50 (1994) 317 - 321.
118. Waegeneers, N., Pizzolon, J. C., Hoenig, M., Temmerman, L. D., The European maximum level for cadmium in bovine kidneys is in Belgium only realistic for cattle up to 2 years of age, *Food Addit. Contam. Part A* 26 (2009) 1239 - 1248.
119. Wasilewska, M., Goessler, W., Zischka, M., Maichin B., Knapp G., Efficiency of oxidation in wet digestion procedures and influence from the residual organic carbon content on selected techniques for determination of trace elements, *J. Anal. At. Spectrom*. 17 (2002) 1121 - 1125.
120. Welz, B., Sperling, M., *Atomic Absorption Spectrometry*, VHC, 3th Ed., Alemanha, 1999.
121. Wershaw, R. L., Rutherford, D. W., Rostad, C. E., Garbarino, J. R., Ferrer, I., Kennedy, K. R., Momplaisir, G., Grange, A., Mass spectrometric identification of an azobenzene derivative produced by smectite-catalyzed conversion of 3-amino-4-hydroxyphenylarsonic acid, *Talanta* 59 (2003) 1219 - 1226.
122. Willie, S. N., D. Gregoire, C., Sturgeon, R. E., Determination of Inorganic and Total Mercury in Biological Tissues by Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Analyst* 122 (1997) 751 - 754.
123. Würfels, M., Jackwerth E., Investigations on the carbon balance in decomposition of biological materials with nitric acid, *Fresenius J. Anal. Chem.* 322 (1985) 354 - 358.
124. Würfels, M., Jackwerth E., Stoeppler, M., Residues from biological materials after pressure-decomposition with nitric acid. II. Identification of the reaction products, *Anal. Chim. Acta* 226 (1989) 17 - 30.